Lane Medical Library

SJOEIB PROEHOEMAN

Studies over de epidemiologie van de ziekte van Weil, over haren verwekker en de daaraan verwante organismen

N.V. DE ACADEMISCHE BOEKWINKEL
AMSTERDAM

Studies over de epidemiologie van de ziekte van Weil, over haren verwekker en de daaraan verwante organismen

Studies over de epidemiologie van de ziekte van Weil, over haren verwekker en de daaraan verwante organismen

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. J. D. VAN DER WAALS JR., HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE, IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA DER UNIVERSITEIT OP WOENSDAG 19 NOVEMBER 1930 DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

SJOEIB PROEHOEMAN

GEBOREN TE PAJAKOEMBOEH (SUMATRA).

N.V. DE ACADEMISCHE BOEKWINKEL
AMSTERDAM

Het verschijnen van dit proefschrift biedt mij de welkome gelegenheid, om U, Hoogleeraren, zoowel van de Medische Faculteit der Universiteit als van de Tropische Cursus te Amsterdam, en U, oud-leeraren van de nu opgeheven S. t. o. v. i. a. te Weltevreden, van ganscher harte te bedanken voor het door mij genoten onderwijs.

In het bijzonder aan U, Hooggeleerde Schüffner, Hooggeachte Promotor, voel ik mij verplicht voor het groote voorrecht onder Uw leiding en met Uw groote steun en voorlichting deze onderzoekingen te mogen verrichten. Mag dit proefschrift dan ook mijn dank vertolken voor het vele, dat ik van U heb mogen leeren!

Zeergeleerde Dinger, voor Uw belangrijke bijdrage tot het doen wélslagen van dit werk ben ik U bijzondere erkentelijkheid schuldig.

De hulp, welke U, Mej. L. Honig, bij de proefnemingen heeft verleend, zal steeds in dankbare herinnering bij mij blijven.

Ten slotte aan allen, die mij op eenigerlei wijze behulpzaam zijn geweest, mijn hartelijken dank.

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/studiesoverdeepi0000sjoe

INHOUD.

		Blz.
Inleiding		
Hoofdstuk I.	Is de leptospira pseudoicterogenes variabel?	1
Hoofdstuk II.	De beteekenis van het water en de daarin voorkomende Leptospiren voor de Pathologie	31
Hoofdstuk III.	De beteekenis van de rat in de epidemiologie van de ziekte van Weil	49
Hoofdstuk IV.	Het verband tusschen de Leptospira icteroides en de Gele koorts en de verhouding van deze leptospira tot de Leptospira icterohaemorrhagiae	64
Hoofdstuk V.	Een diagnosticum voor Leptospirosen . .	85
Literatuur	. . . . .	91

AAN DE NAGEDACHTENIS VAN MIJN OUDERS

AAN MIJN VROUW EN KINDEREN

INLEIDING

Aanleiding tot deze onderzoekingen is in de eerste plaats geweest de studie van de beteekenis van de *Waterleptospiren*, de *leptospirae pseudoicterogenes Zuelzer,* voor de pathologie. Haar *variabele* aard zou volgens sommige onderzoekers den overgang van deze *saprophytisch* levende microorganismen in *ziekteverwekkers* mogelijk maken. Hiermede zou dan tevens voor de eerste maal het bewijs geleverd zijn, dat een *saprophyt* in een *parasiet* overging. Deze vondst brengt de waterleptospiren, welke in de gansche wereld ubiquitair voorkomen — zelfs in de best bekende drinkwaterleidingen kan men ze vinden — in een nieuw licht voor de *epidemiologie* van de *ziekte van Weil.*

Met onze proeven, waarvoor we de beschikking gehad hebben over 3 waterstammen, n. l. *WaA*, *WaZ* en *WaO*, welke in den loop van *1926* door Mochtar (33) uit water van verschillende herkomst in *Amsterdam* waren geisoleerd en in reincultuur gebracht, hebben we een nadere bevestiging van deze belangrijke vondsten trachten te vinden.

Verder werd een poging gedaan nader te komen tot de kennis van de rol, die het *water* en de *rat* i. c. de *mus decumanus s. norvegicus* in de *epidemiologie* der *leptospirosen* spelen.

Ten derde hebben we nagegaan het verband tusschen de *leptospira icteroides Noguchi* en de *gele koorts* en de verhouding van deze leptospira tot den *Weilverwekker*. Dit vraagstuk was bij den aanvang van dit onderzoek actueel. Nu weten we, dat de *leptospira icteroides* niets heeft uit te staan met de *gele koorts.* De verwekker van deze ziekte is nog onbekend. Sinds twee jaar is het onderzoek hiernaar ook in het Instituut voor tropische hygiene te Amsterdam ter hand genomen.

Ten slotte hebben we getracht een *reagens* te vinden, waardoor de serologische diagnostiek van de *leptospirosen* zoodanig vereenvoudigd zou kunnen worden, dat deze niet meer uitsluitend in daarvoor speciaal ingerichte laboratoria zou behoeven te geschieden, hetgeen aan de kennis en herkenning van deze groep van ziekten ongetwijfeld ten goede zal komen.

HOOFDSTUK I.

Is de Leptospira pseudoicterogenes variabel?

De saprophytische *waterleptospira,* oorspronkelijk door Zuelzer genoemd *Spirochaeta pseudoicterogenes,* vanwege de morphologische overeenkomst met de *Spirochaeta icterogenes,* is het eerst door Wolbach en Binger (70) beschreven onder den naam van *Spirochaeta biflexa.*

Op de beteekenis van deze *waterleptospiren* voor de pathologie is in de eerste plaats door Uhlenhuth en Zuelzer (64) gewezen. Zij achten het mogelijk, dat onder bepaalde omstandigheden deze microorganismen in *ziekteverwekkers* zouden kunnen overgaan, naar analogie van de ook in de vrije natuur als saprophyten levende *Paratyphusbacillen,* welke naar hun meening pathogene eigenschappen kunnen aannemen.

De in deze richting door hen in 1921 verrichte onderzoekingen zouden een bevestiging dezer hypothese hebben gebracht. Zuelzer (74) deelde hieromtrent mede, dat het gelukt was „die unzweifelhafte Entwicklung eines harmlosen frei im Wasser lebenden Saprophyten bis zum hochpathogenen Wirbeltierparasiten experimentell zu verfolgen", waarbij de *l. pseudoicterogenes* door „Anreicherung" en voortgezette passages in serumbevattende waterculturen, zoodanig veranderd was, dat ze de eigenschappen van de *Weilleptospira,* serologisch zoowel als immunologisch, had aangenomen. In één geval was de veranderde *l. pseudoicterogenes* zelfs in staat de *ziekte van Weil* bij een cavia te verwekken. Dit *variabiliteitsverschijnsel* namen meergenoemde onderzoekers waar bij den *stam Rg.* 1 na verloop van één jaar kweeken. De invloed van de „gewenning" aan het dierlijk eiwit uitte zich daarin, dat de gelijkenis met de *Weilleptospira* met den duur van de cultiveering toenam.

Dit verschijnsel is inderdaad een unicum in de microbiologie. Gotschlich (14) zegt hieromtrent in het „Handb. d. pathog. Microorg." van Kolle en Wasserman. 1929. bd. 1. dl. 1. pag. 215: „Dauerhafte Erwerbung neuer positiver Merkmale gehört (dagegen), insbesondere bei Bakterien zu den grószten Seltenheiten, *vor allem ist bisher noch in keinem einzigen Falle der experimentelle Beweis dafür gelungen, dasz typische bakterielle Seuchenerreger durch Variation aus verwandten Saprophyten hervorgegangen seien.* Bei den dem Reiche der Bakterien nahestehenden *Spirochäten* ist dieser Beweis, allerdings in einwandfreier Weise von Uhlenhuth und Zuelzer erbracht worden, denen es gelang, aus frei lebenden Wasserspirochäten der Berliner Leitungswassers — d.h. an einem Ort, wo die Seuche gar nicht vorhanden war und demgemäsz der Einwand, es könne sich um Wiedergewinnung der Virulenz bei vorher abgeschwächten Stämmen handlen, nicht möglich ist — den typischen Erreger der *Weilschen Krankheit,* die *Spirochäta icterogenes,* durch künstliche Kultur und Tierpassage heranzuzüchten". Kortgezegd, door de vondst van Uhlenhuth en Zuelzer *zou voor de eerste keer de overgang van een saprophyt in een ziekteverwekker aangetoond geworden zijn.*

Neufeld (37) acht het ontstaan van ziekteverwekkers uit saprophyten mogelijk en waarschijnlijk, doch meent te betwijfelen, of bij de proeven van laatstgenoemde onderzoekers was uitgegaan van een geheel a-pathogene soort, de echte saprophytische waterleptospiren.

Intusschen zou het Uhlenhuth met medewerkers later gelukt zijn nog meerdere bewijzen te leveren voor de juistheid zijner vondsten. Met Grossmann kweekte hij (62) in 1926 den waterstam *„Erlangen"* op een voedingsbodem met 10 % *rattenserum.* Dit laatste werd gebruikt ter nabootsing der natuurlijke omstandigheden, omdat hij meende, dat het rattenorganisme het meest in aanmerking kwam voor de plaats der *„Umwandlung"* der saprophytische *water*leptospiren in pathogene *Weil*-leptospiren.

Na 3 overëntingen werd 1 c.c. van deze cultuur intraperitoneaal ingespoten in 2 caviae, die 5 dagen later onder het typische beeld van *Weil* (icterus, bloedingen in de longen etc.) succombeerden.

De stam *„Erlangen"* had vóór deze proef serologisch noch biologisch eenige overeenkomst met de *Weilleptospiren,* terwijl na het kweeken in rattenserum de eigenschappen zoodanig veranderd waren, dat uit de saprophyt *„Erlangen"* een echte *Weilverwekker* was ontstaan.

In 1927 deelden Uhlenhuth en Herrmann (63) mede, dat ze de *„Umwandlung"* door middel van *dierpassages* hebben tot stand gebracht, waarbij volgens 2 methoden te werk was gegaan.

Bij de eerste methode kon bij jonge ratten, die tevoren met oostindischen inkt geblokkeerd en daarna met *waterleptospiren* intraperitoneaal ingespoten waren, in 12 van de 20 gevallen, d.i. dus 60 %, een *vastnestelen* van deze laatste in de nieren (der ratten) worden geconstateerd. De emulsie hiervan, 10 dagen na de inspuiting der ratten, gaf bij intraperitoneale injectie van caviae in 6 van de 8 gevallen, dus 75 %, een typisch *Weilbeeld* bij deze proefdieren. Ze stierven met icterus, en er konden leptospiren worden aangetoond.

De tweede methode, waarbij steeds de nieren van de cavia voor de volgende dierpassages werden gebruikt, gaf van de 10 gevallen 4 positieve resultaten of 40 %, waarvan 2 reeds in de 2de passage, 1 in de derde en 1 in de vierde passage. Hierbij werden de proefdieren, indien ze niet spontaan doodgingen, opzettelijk afgemaakt: 1 geval na 2 dagen, 1 na 12 dagen en 1 na 15 dagen na de inspuiting met de niermassa.

Deze experimenten werden genomen met den waterstam *„Erlangen"*, toen reeds minstens 5 jaren gekweekt. In beide gevallen was de uitslag der proef zoodanig, dat genoemde stam, die te voren zonder twijfel de eigenschappen van *saprophytische waterleptospiren* vertoonde, in een van *echte pathogene Weilleptospiren* was veranderd.

Doch behalve Uhlenhuth en medewerkers meenen ook Baermann, Zuelzer en Smits (4, 5, 6) het bewijs geleverd te hebben van deze *variabele eigenschappen* der *waterstammen,* ja, zij meenen zelfs, dat er „vorläufig auch keinerlei Anhaltspunkt dafür (besteht), dasz diese Wasserspirochäten in prinzipiell pathogene und prinzipiell saprophytische zu teilen sind, im Gegenteil weisen alle bisherigen Untersuchungen darauf hin, dasz dieselbe alle bei gegebenen günstigen Umständen

infektionstüchtig sind und die Fähigkeit besitzen Weilerkrankungen aller Grade zu verursachen, dasz *sie damit auch identisch mit den aus Mensch und Tier gezüchteten Icterogenesstämmen sind".* Bij deze proeven maakten ze eveneens gebruik van *dierpassages* — in enkele gevallen voor de eerste passage een *mensch* — waarbij in de volgende caviae organen en bloed werden ingespoten. Aldus werkende hebben ze in sommige gevallen reeds in de *eerste* passage het aanslaan der leptospireninfectie kunnen waarnemen, terwijl ze konden opmerken, dat de *virulentie* van den stam bij de volgende passages steeds toenam. Deze onderzoekers hebben nu in *Sumatra,* behalve de 4 daar geïsoleerde, waarvan 3 *versch,* ook 4 uit *Europa* afkomstige *waterstammen,* waaronder onze stammen *WaA* en *WaZ,**) zoo weten te veranderen, dat ze virulent werden en een typisch *Weilbeeld* reeds na 2 passages te voorschijn riepen.

Baermann en Zuelzer hebben den waterstam *WaA* in 3 gevallen na 3 *caviapassages,* en den stam *WaZ* in 1 geval na 1 *menschen-* en 1 *caviapassage* pathogeen kunnen maken. Hierbij werd het merkwaardige feit geconstateerd, dat het serum van de met *WaZ* behandelde menschen slechts den oorspronkelijken waterstam van vóór de menschenpassage agglutineerde en lyseerde, doch niet den stam ná deze passage, of andere *mensch-, dier-* of *waterstammen.* Daarentegen werd de stam ná de eerste passage, in tegenstelling met den oorspronkelijken stam *WaZ,* wèl beïnvloed door sera van *mensch-* en *dierstammen,* ofschoon slechts tot 1:400 bij een serumtiter van 1:8000. Hieruit concludeerden genoemde auteurs, dat de stam *WaZ* wel in den mensch aangeslagen was, doch zoo'n korten tijd, dat deze stam slechts eenzijdige en alleen op hem ingestelde immuniteitsreacties te voorschijn riep, en dat hij biologisch slechts zooveel veranderd was, dat in de tweede passage een geringe aggressie vertoond werd.

Uit de publicaties van genoemde onderzoekers zou men moeten concludeeren, dat de *variabiliteit* der *saprophytische water-*

---

*) Deze stammen zijn door Mochtar geïsoleerd resp. uit de Amsterdamsche drinkwaterleiding, welke haar bronnen heeft in de duinen, en uit het water van een sloot van een der buitenwijken van Amsterdam.

leptospiren, waardoor ze in *ziekteverwekkers* kunnen overgaan, als een vaststaand feit beschouwd moet worden, al hebben de auteurs, dit zij direct vermeld, moeten erkennen, dat de „Umwandlung" niet steeds en regelmatig gelukte, ook niet bij den een en denzelfden stam.

Uhlenhuth en Grossmann (62) deelden hieromtrent b.v. mede: „Stamm *Erlangen* wurde auf Rattenserumwassergemisch gebracht und nach 3 Passagen bekamen 2 Meerschweinchen 1 c.c. der letzten Kulturpassage intraperit. Beide Tiere starben nach 5 Tagen mit typischen Befund (Icterus, Blutungen in der Lungen, usw.). Die Wiederholung des gleichen Versuches unter Heranziehung des Wasserstammes „*Rg*", ebenfalls nach 3 passagen, ergab ein negatives Resultat, keines der Tiere erkrankte an *Weil.* Wir haben nun die Züchtung von Stamm *Erlangen* fortgesetzt bis zu 6 Passagen und auch dann keine Erkrankung von Meerschweinchen gesehen. Es hat sich also auch auf diesem Weg bisher kein sicher verwertbares Resultat ergeben." Later merkten Uhlenhuth en Herrmann (63) op: „Die Wiederholung dieses Versuches (*zie bladz. 3, al.* 2) mit demselben Ausgangsstamm unter Anwendung möglichst junger Tiere verlief negativ. Bei 2 anderen Wasserweilstämmen *Berlin* und *Japan* ist uns eine Umwandlung ebenfalls bisher nicht gelungen." In 't nieuwe „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen" van Kolle en Wassermann (1930) resumeeren Uhlenhuth en Fromme, dat „solche Umwandlungen unter den Verhältnissen des Laboratoriums bei uns zu den *seltenen* Ausnahmen gehören", enz.

En Baermann en Zuelzer (6) zeiden: „Ein ein- oder mehrmaliges Versagen beweist nichts; es müssen die Versuche unverdrossen auf alle möglichen Weisen wiederholt werden. Warum der Versuch einmal gelingt und das andere Mal nicht, ist bisher nicht bekannt".

Het is intusschen geen anderen onderzoeker gelukt de mogelijkheid van deze „*Umwandlung*" te bevestigen.*) Van Thiel (59), die zich ook met dit vraagstuk heeft beziggehouden, moest

*) Van Pettit (45) is een mededeeling verschenen omtrent een jarenlang gekweekten *waterstam,* die in staat zou zijn een *positieve* serologische reactie te geven met het serum van genezen *Weilzieken,* doch die nog geen pathogene eigenschappen vertoonde. Nadere gegevens ontbreken.

zijn proeven besluiten met de mededeeling, dat er bij de leptospiren, gekweekt uit de drinkwaterleiding te *Leiden* en sinds twee jaar in cultuur gehouden in dierlijk eiwit bevattenden voedingsbodem, noch serologische noch biologische veranderingen waren te constateeren, welke de aanname van een verwantschap met de *Weilleptospiren* ook maar eenigszins zouden wettigen.

Deze zelfde waterstam vertoont bij ons, waar hij reeds 6 jaar in cultuur is gehouden, evenmin eenige serologische verwantschap met de *Weilstammen* (*zie tabel* 1). In verloop van 3 jaar tijd is de reactie tegenover het antiserum van *WaA, WaZ* en *WaO* niet veranderd.*) Zie *tabel* 2.

TABEL 1.

Antiserum:	*Weil Nederland*		
gemengd met:	*waterstam Leiden*, **6 j.** oud.		
Verdunning	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 22 uren
Contrôle	—	—	++++
10	—	—	++++
25	—	—	++++
50	—	—	++++
100	—	—	++++
250	—	—	++++
500	—	—	++++
1000			
2500			
5000			
10000			
25000			
50000			

Evenmin gelukte de *„Umwandlung"* aan Zimmermann (72), Gardner (13), Inada (zie 61) en Kagaya (23), welke

*) Zuelzer (73) zou later ook dezen waterstam tot *„haften"* hebben gebracht, waarbij geconstateerd werd, dat de passagestam een veranderde antigene structuur, echter nog geen volkomen *„Umwandlung"*, vertoonde.

laatste tot de conclusie kwam „that the *leptospira icterohaemorrhagiae,* (the lept. akiyami A. strain, the lept. hebdomadis) and the *waterleptospira* are individually of independent kinds, and it can never be admitted that they change into the other kinds by transformation of nature, that is, each one of them is, the author believes, *strain sui generis*".

Ook onze proefnemingen, later nog voortgezet door Dinger, brengen in deze kwestie geen nader bewijs. Wij werkten in de eerste plaats met de 3 waterstammen *WaA, WaZ* (boven reeds genoemd) en *WaO,* welke laatste ook door Mochtar, uit het water van een der *vijvers* van het Oosterpark te *Amsterdam,* was geïsoleerd. Deze stammen zijn sedert 1926 in het Instituut voor Tropische Hygiene voortgekweekt in konijnenserum-peptonwater volgens Vervoort.

a. Allereerst hebben we door middel van de agglutinatieproef nagegaan, of er in de *serologie* na verloop van 4 jaren ook wat *veranderd* zou zijn.

Volgens de onderzoekingen van Mochtar (33) in het midden van 1926, toen de stammen nog slechts *korten* tijd in cultuur werden gehouden, bestond er niet de minste affiniteit tusschen deze 3 *stammen* met het *anti-Weilserum,* en omgekeerd evenmin tusschen den *Weilstam* met het antiserum *WaZ.* Ook onderling verschilden deze *waterstammen* geheel — slechts nagegaan met het *antiserum WaZ* —, de reactie van *WaO* en *WaA,* ten opzichte van dit antiserum was 0, terwijl dit met den *eigen stam* een agglutinatietiter gaf van 25.000.

Toen we in 1927 ook over *antisera der andere waterstammen* konden beschikken, bevestigden de proeven hiermee de serologische verschillen der 3 *stammen.* Ook de kruisagglutinatie: *waterstam-Weilstam* gaf te zien, dat er geenerlei *verwantschap* bestond tusschen deze *l. pseudoicterogenes* en de *Weilleptospira,* ondanks het feit, dat

de *waterstammen* sinds *één* jaar aan het dierlijk eiwit in *Vervoort's* voedingsbodem *„gewend"* waren — hetgeen toch volgens Uhlenhuth en Zuelzer (64) zooveel invloed moest hebben op de *„Umwandlung"* dezer leptospirensoorten — en

de *Weilstammen* hun pathogeniteit reeds *geheel verloren* hadden.

Herhaling der proeven in 1930 bracht *geen* wijziging in de uit-

TABEL 2.

AGGLUTINATIE-LYPSISPROEVEN.

Leptospirenstam.	Antisera.				*Weil-Nederland.*
	Van 1 j. ouden *WaA*stam	Van ½ j. ouden	Van 4 j. ouden	Van 1 j. ouden *WaO*stam	
		*WaZ*stam.			
WaA < 1 j. oud / 4 j. oud	25.000 10.000	0 0	— 0	0 0	0 0
WaLeiden < 2 j. oud / 6 j. oud	25.000 10.000	0 0	— 0	0 0	0 0
WaZ < 1 j. oud / 4 j. oud	0 0	25.000 10.000	— 50.000	0 0	0 0
WaO < 1 j. oud / 4 j. oud	0 0	0 0	— 0	50.000 25.000	0 0
Weil-Nederland	0	0	0	0	25.000

komsten (*zie tabel* 2). *De waterstammen, nu reeds* 4 jaar *oud, gaven met het antiserum van den Weilstam* (titer 25.000) *totaal* geen *reactie, evenmin vertoonden zij nu veranderde eigenschappen tegenover hun antiserum, dat vroeger verkregen was, toen ze nog slechts één jaar lang gekweekt waren.*

In navolging van Uhlenhuth en Grossmann hebben we de *waterstammen* eveneens gekweekt in voedingsbodems met 10 % *rattenserum,* doch ook hierdoor, waarbij na 1 jaar de stam *WaA* tot de 41*ste,* stam *WaZ* tot de 36*ste* en stam *WaO* tot de 30*ste overënting* gebracht was, waren de stammen *serologisch* niet veranderd. We hebben verder de *waterstammen* in het cavialichaam gebracht en hieruit na eenigen tijd — bij intracardiale inspuiting kon dit hoogstens na 21 min., bij intraperitoneale injectie nog na 4½ en 5 u. — gekweekt, daarna de verkregen culturen geagglutineerd met anti-*Weil*serum en het *eigen* serum. Ook hierbij zagen we (*zie tabel* 3) niet de *minste verandering* optreden. *Deze stabiliteit van de antigene structuur,* afgezien van tijdelijke en zeer geringe verschuivingen, *vonden we eveneens bij de andere leptospirensoorten,* zooals de Nederlandsche *Weilstammen,* de verschillende Sumatrastammen *„Rachmat", „Salinem", „Pawirosendjojo"* e.a., den *hebdomadisstam,* verschillende *leptospira icteroidesstammen* van *Noguchi* en de *ratstammen, ondanks* jarenlange cultiveering in kunstmatige voedingsbodems.

b. Hetzelfde nu geldt voor de *immunologische eigenschappen* der *waterstammen,* die onveranderd bleven, zooals bleek uit de proef van *Pfeiffer.* Caviae intraperitoneaal ingespoten met een *Weilstam,* die ½ u. tevoren met resp. 10 % antiserum *WaA, WaZ* en *WaO,* afkomstig van een 1 jaar ouden stam, was gemengd, gingen binnen den normalen tijd ten gronde. Genoemd serum had in het geheel geen bescherming gegeven. De *controle*cavia, ingespoten met denzelfden stam, gemengd met 10 % *anti-Weilserum,* kwam de infectie te boven. (*tabel* 4).

c. Tenslotte de virulentie. Van onze culturen van *waterleptospiren,* welke langen tijd aan dierlijk serum (zie boven) waren *„gewend",* werden groote hoeveelheden (10 c.c. en meer) bij caviae intraperitoneaal ingespoten (*zie tabel* 5). *Geen enkele keer hebben we daarna de infectie zien aanslaan, er waren er ook geen teekenen merkbaar, welke zelfs op een symptoomlooze*

TABEL 3 AGGLUTINATI

Antiserum: *Wa. Z.* (1926) gemengd met stam: *Wa. Z.*				Antiserum: *Wa. Z.* (1926 gemengd met stam: *Wa. Z.*, gekweek na 4½ u. verblijf in buikholt van een cavia.		
Verdunning	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 20 uren	Agglutinatie	Lysis	Overlevend leptospiren na 20 uren
Contrôle	—	—	++++	—	—	++++
10	++	—	++	++	—	++
25	+++	—	+	+++	—	+
50	+++	—	+	+++	—	+
100	++	+	+	++	+	+
250	+	++	+	+	++	+
500	—	+++	+	—	+++	+
1000	—	+++	+	—	+++	+
2500	—	+++	+	—	+++	+
5000	—	++	++	—	++	++
10000	—	++	++	—	++	++
25000	—	+	+++	—	+	+++
50000	—	—	++++	—	—	++++

Antiserum: *Wa. A.* (1927) gemengd met stam: *Wa. A.*				Antiserum: *Wa. A.* (1927 gemengd met stam: *Wa. A.*, gekweek na 5 u. verblijf in buikholt van een cavia.		
Verdunning	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 20 uren	Agglutinatie	Lysis	Overleven leptospire na 20 ure
Contrôle	—	—	++++	—	—	++++
10	++	—	++	++	—	++
25	++	—	++	++	—	++
50	++	—	++	++	—	++
100	+	+	++	++	—	++
250	—	++	++	+	+	++
500	—	++	++	—	++	++
1000	—	++	++	—	++	++
2500	—	++	++	—	++	++
5000	—	++	++	—	++	++
10000	—	+	+++	—	+	+++
25000	—	+	+++	—	+	+++
50000	—	—	++++	—	—	++++

SISPROEVEN (1930).

ntiserum: *Weil Nederland*
emengd met stam: *Wa. Z.*, gekweekt na 4½ u. verblijf in buikholte van een cavia.

Antiserum: *Weil Nederland*
gemengd met stam: *Wa. Z.*

rglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 20 uren	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 22 uren
—	—	++++	—	—	++++
—	—	++++	—	—	++++
—	—	++++	—	—	++++
—	—	++++	—	—	++++

Antiserum: *Weil Nederland*
gemengd met stam: *Wa. A.*, gekweekt na 5 u. verblijf in buikholte van een cavia.

Antiserum: *Weil Nederland*
gemengd met stam: *Wa. A.*

gglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 20 uren	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 20 uren
—	—	++++	—	—	++++
—	—	++++	—	—	++++
—	—	++++	—	—	++++
—	—	++++	—	—	++++

Vervolg TABEL 3

Antiserum: *Weil Nederland*
gemengd met stam: *Weil Nederland*

Verdunning	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 22 uren
Contrôle	—	—	++++
10	++	—	++
25	++	—	++
50	+++	—	+
100	++	+	+
250	+	++	+
500	—	+++	+
1000	—	+++	+
2500	—	+++	+
5000	—	++	++
10000	—	++	++
25000	—	+	+++
50000	—	—	++++

TABEL 4.

PROEVEN VOLGENS PFEIFFER.

Intraperitoneaal ingespoten met een mengsel van:		Verdunning van 't antiserum.	Afloop.
Weil-stam.	Antiserum van.		
1 c.c. cultuur	1 j. ouden *WaA*stam	1:10	typisch **dood** na 4 dagen.
1 c.c. cultuur	1 j. ouden *WaZ*stam	1:10	typisch **dood** na 3 dagen.
1 c.c. cultuur	1 j. ouden *WaO*stam	1:10	typisch **dood** na 4 dagen.
1 c.c. cultuur	*Weil*	1:10	in leven.
1 c.c. cultuur	*Normaal*serum	1:10	typisch **dood** na 3 dagen.

typisch dood = gestorven met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

infectie der proefdieren zouden wijzen. Alle caviae gingen na de herënting met een *Weilstam* ten gronde zonder het minste verschijnsel van een bescherming te vertoonen.

Evenmin kon de *cultuurproef* van het hartbloed van de caviae, op *verschillende* dagen na de injectie met de *waterleptospiren* genomen en minstens gedurende één maand geobserveerd, *eenig bewijs* leveren, dat de *waterstammen* zich in 't dierlijk lichaam *handhaven,* laat staan *vermenigvuldigen,* konden. Eén geval, waarbij de cultuurproef van het hartbloed *positief* was na de inspuiting van de cavia met *waterleptospiren,* doch, dat we niet als een *„Umwandlung"* willen beschouwen, beschrijven we straks.

Ook door middel van verdere *dierpassages,* waarbij voor de overëntingen buikpunctaat, bloed*) en orgaandeelen, zooals Uhlenhuth, Herrmann, Baermann, Zuelzer en Smits het voorschreven, werden gebruikt, was het ons niet mogelijk de *waterstammen* pathogeen te maken of slechts tot „haften" te brengen, of ook maar een symptoomlooze Weilinfectie te doen veroorzaken. Noch het *microscopisch onderzoek* en de *cultuurproef* van het hartebloed of ook van het buikpunctaat, noch de *herënting* met een *Weilstam* bracht hiervoor eenige aanwijzing (*zie tabel* 5).

Bij deze *dierpassages* hebben we eveneens gebruik gemaakt van culturen, die aan *konijnen-* en *rattenserum* waren *„gewend"*, hiermee dus de verschillende methoden combineerend.

Wij hebben bij onze proeven verder kunnen opmerken, dat de *waterleptospiren* zich slechts *enkele uren,***) zeker *geen etmaal,*

*) Het gebruik van het hartbloed voor de dierpassages hebben we slechts tot de *derde,* een enkele keer tot de 4e passage voortgezet, omdat uit de tevens aangelegde culturen van het bloed bij de *eerste* passage gebleken was, dat niet *eenmaal* hierin leptospiren voorkwamen, zoodat een meerdere passage ons doelloos leek. Daar echter de cultuur eerst na 1 maand als beslist *negatief* was te beschouwen, konden we in dien tusschentijd de 2e en 3e *dierpassage* niet uitschakelen. Misschien zouden er toch nog leptospiren in 't bloed circuleeren, die we dan op deze wijze zouden kunnen aantoonen.

**) Van een *„Haften"* kan volgens Baermann en Zuelzer eerst gesproken worden, als de leptospiren in het bloed of de peritoneale holte na een *negatieve phase* van minstens 3 *dagen* nog aantoonbaar zijn. Dinger heeft door het „volspuiten" van een cavia met een cultuur van waterleptospiren deze laatste nog den volgenden dag in de organen van het toen reeds gesuccombeerde proefdier kunnen aantoonen. De inspuiting van deze organen in andere caviae heeft echter geen ziekteverschijnselen veroorzaakt, de leptospiren werden daarna ook niet weer teruggevonden.

in de peritoneale holte van de cavia kunnen handhaven, en direct in de bloedbaan (intracardiaal) gebracht, is dit een kwestie van slechts *minuten*. Het gelukt ze later evenmin nog in de urine en organen, z.a. nieren, lever, longen, beenmerg, milt en hersenen aan te toonen.

Bij de *Weilleptospiren* zijn deze verhoudingen zeer gevarieerd, al naar gelang van de *virulentie*. De zeer virulente vormen kan men na de injectie zelfs tot aan den dood van het proefdier in het periphere bloed terugvinden, terwijl de minder virulente stammen tijdelijk hieruit verdwijnen, om later weer te voorschijn te komen in steeds grooter aantal tot den exitus van het proefdier. De geheel avirulente soorten worden spoedig, doch in het algemeen langzamer dan de waterleptospiren, in het cavialichaam vernietigd.

In totaal hebben we met onze *waterstammen* 39 series proeven met *dierpassages* (69 caviae) verricht, zonder *één* enkel positief resultaat. Uhlenhuth en Herrmann (63) hebben, zooals we boven zagen, bij 10 dergelijke experimenten in 40 % der gevallen *positieve vondsten* kunnen noteeren.

Hoe zijn deze *verschillen* in uitkomsten te verklaren? Het is natuurlijk niet uitgesloten, dat bij de *geslaagde proeven* factoren werkzaam waren, welke we bij *onze* proeven misten. Zoo meent b.v. Zuelzer (73), dat in *Sumatra*, waar de *waterleptospiren* gemakkelijk en regelmatig in het dierlijk organisme tot *„haften"* waren te brengen, mogelijk de *aard* van het water en den bodem een bijzonderen rol zou spelen, en wel in dien zin, dat het voedsel, in casu de planten, een dispositie der proefdieren zou doen ontstaan.

Ook aan den invloed van het *ras* van de cavia werd gedacht (Uhlenhuth), en daarom hebben we eveneens proeven genomen met uit Deli (*Sumatra*) afkomstige caviae, echter met hetzelfde *negatieve* resultaat.

Het is echter ook mogelijk, dat de *positieve* uitkomsten van Uhlenhuth, Zuelzer e.a. in het geheel *niet* op een *„Umwandlung"* berusten.

Onwillekeurig dringt zich in dit verband de mededeeling van Hoffmann (20) bij ons op: „Ich selbst beobachtete zu einer Zeit, als schon monatelang unsere Leptospirenarbeiten ausgesetzt waren, dasz unter den Meerschweinchen, die mit den

Versuchstieren in einem Zimmer gehalten waren, ein erwachsenes Tier eine typische Leptospireninfektion entwickelte, so dasz ich glaube, dasz diese Tiere einer *natürlichen,* wahrscheinlich auch einer *latenten Infektion* in ähnlicher Weise zugänglich sind wie die Ratten." Uhlenhuth en Fromme (61) en Bijl en Young (7) achten een *spontane* laboratoriumbesmetting der caviae met de *ziekte van Weil,* hetzij door insecten, hetzij langs anderen weg, eveneens mogelijk. Men zou zich dus kunnen voorstellen, dat de *inspuiting van waterleptospiren bij zulke dieren een* latente *infectie tot een* manifeste *maken kan.*

Ook ons *ééne* geval (zie later bladz. 30, *proef No.* 44), waarbij we uit het hartbloed van cavia No. 40, welke 2 dagen te voren binnen den tijd van 2 uren met 19½ c.c. cultuur van den waterstam *WaZ* intraperitoneaal was ingespoten, *leptospiren* hebben gekweekt, moeten we om de volgende redenen tot deze groep van *infecties* rekenen.

Deze *leptospiren* reageeren n.l. met het *antiserum* van den *„Weil"*-stam tot nagenoeg de *titergrens* en met het *antiserum* van den ingespoten waterstam *WaZ* in het geheel niet (*zie tabel* 6). Indien er van een *„Umwandlung"* sprake zou zijn, dan was deze totale ommekeer der reactie (*vergelijk tabel* 2, 3 *en* 6) na een zoo *kortstondig verblijf* der leptospiren van slechts 48 uren in het lichaam van het *eerste passagedier,* geheel ongewoon. Immers is het uit de *„positieve"* proeven van de andere onderzoekers bekend, dat het proces van de *„Umwandlung"* zeer geleidelijk geschiedde, en eerst na meerdere *dierpassages* volkomen werd.

Ook *immunologisch* was er geen verschil te constateeren tusschen den *„Weil"*-stam en den pas geïsoleerden *caviastam.**) De met dezen laatste ingespoten caviae bleken immuun te zijn tegen de infectie met een zeer virulenten *„Weil"*-stam.

Volgens mondelinge mededeeling van Mej. Dr. Ruys te Amsterdam heeft zij bij haar proefdieren (caviae) ook een geval van een spontane *Weil*-infectie waargenomen.

Uhlenhuth en Herrmann (63) hebben z.a. boven gezegd 20 *„Umwandlungsproeven"* genomen met *waterleptospiren,*

*) Deze stam vertoonde bij onze verdere proeven geen pathogeniteit. Wel bleef hij eenigen tijd (2 à 4 dagen) in het cavialichaam „haften", doch de proefdieren overleefden, ook in de 4e passage, alle de infectie.

TABEL 6.

a. AGGLUTINATIE-LYSISPROEVEN.

Antiserum: *Weil Nederland* Gemengd met stam: *Weil Nederland*			Antiserum: *waterstam WaZ* Gemengd met stam: *WaZ*			Antiserum: *„Rachmat"* Gemengd met stam: *„Rachmat"*		
Verdunning	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 23 uren	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 24 uren	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 19 uren
Contrôle	—	—	++++	—	—	++++	—	—	++++
10	++	—	++	+++	—	+	++	—	++
25	++	—	++	+++	—	+	+++	—	+
50	+++	—	+	++	+	+	++	+	+
100	++	+	+	+	++	+	—	+++	+
250	+	++	+	+	++	+	—	+++	+
500	—	+++	+	+	++	+	—	+++	+
1000	—	+++	+	—	+++	+	—	+++	+
2500	—	+++	+	—	+++	+	—	++	++
5000	—	++	++	—	++	++	—	++	++
10000	—	++	++	—	++	++	—	++	++
25000	—	+	+++	—	++	++	—	++	++
50000	—	—	++++	—	+	+++	—	+	+++

Antiserum: *Weil-Nederland.* Gemengd met *stam* uit *cav. 40* gekweekt				Antiserum: *waterstam WaZ* Gemengd met *stam* uit *cav. 40* gekweekt			Antiserum: *„Rachmat"* Gemengd met *stam* uit *cav. 40* gekweekt		
Verdunning	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 19 uren	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 22 uren	Agglutinatie	Lysis	Overlevende leptospiren na 19 uren
Contrôle	—	—	++++	—	—	++++	—	—	++++
10	+++	—	+	—	—	++++	—	+	+++
25	+++	—	+	—	—	++++	—	+	+++
50	++	+	+	—	—	++++	—	—	++++
100	—	+++	+				—	—	++++
250	—	+++	+				—	—	++++
500	—	+++	+						
1000	—	+++	+						
2500	—	+++	+						
5000	—	++	++						
10000	—	+	+++						
25000	—	—	++++						
50000	—	—	++++						

door middel van inspuiting van jonge ratten en kwamen tot een positief resultaat van 60 %. Moet men bij soortgelijke uitkomsten zich niet afvragen, of hierbij wel een *„Umwandlung"* heeft plaats gehad? Immers is het bekend, dat er onder de *ratten,* ook de *jonge* exemplaren, zoovele leptospirendragers zijn, die zelfs bij herhaald urineonderzoek — want hiervan kan in dit geval alleen sprake zijn — niet herkend behoeven te worden. De na de inspuiting met *waterleptospiren* in de ratten gevonden exemplaren kunnen evengoed zijn de reeds tevoren in het rattenorganisme aanwezige *rattenleptospiren.* Hier behoeft geen verandering van *water*-leptospiren in *Weil*-leptospiren te bestaan, doch het is slechts een activeering van de *natuurlijke besmetting* door de injectie.

Samenvattend is de uitkomst onzer proeven dus negatief, *geen enkele der* 3 waterstammen *WaA, WaZ* en *WaO* kon *door de verschillende kunstbewerkingen* worden veranderd in *soorten,* die, zelfs maar in *minimalen graad,* op Weilleptospiren *zouden gelijken.* Genoemde stammen zijn, zoowel serologisch als immuunbiologisch, als bij het uitgangspunt gebleven.

Het aantal der proeven en haar variatie is o.i. groot genoeg, om aan het negatieve resultaat een zekere waarde toe te kennen.

CONCLUSIE.

1. *De leptospira pseudoicterogenes was in mijne proeven niet voor „Umwandlung" vatbaar, kon zelfs niet tot „haften" gebracht worden, en was dus ook niet in staat Weil's ziekte te verwekken.*
2. *De leptospira pseudoicterogenes kan zich slechts korten tijd — eenige uren en nog geen etmaal — in het cavialichaam handhaven.*
3. *De leptospira pseudoicterogenes staat apart en afgescheiden* van de *Weilleptospira.*
4. *De serologische en immunologische eigenschappen der verschillende leptospirensoorten zijn ook na jarenlange cultiveering in kunstmatige voedingsbodems constant.*
5. *De virulentie der pathogene leptospiren is echter aan schommelingen onderhevig.*

PROTOCOLLEN.

Proef 1.

19.11.1926: Cavia nr. 364 met een gew. van ongev. 300 gr. *intraperit.* ingespoten met $2^1/_2$ cc. dichte (+++)*) cultuur *WaA* v/d 4de overënting op rattenserum; na 2 u. perit. vocht microscopisch negatief, doch cultuurproef positief. Proefdier verder gezond, buikpunctaat en bloed steeds negatief, na 27 dagen proef afgebroken.

Met cultuur v/h periton. vocht (bovengenoemd) werden 2 caviae *i.p.**) ingespoten:

A. 30.11.1926: Cavia nr. 386 met de 11 dagen oude cultuur (2 cc.) ingespoten; op den 2den en 3den dag temp. verhooging van 39.1, den volgenden dag perit. vocht en bloed microscopisch negatief; cavia nr. 391 (voor de 3de dier-passage) met $1^1/_2$ cc. hartbloed van denzelfden dag *i.p.* ingespoten, steeds gezond, het buikpunctaat immer negatief, den 4den dag 1 cc. hartbloed afgenomen (microscop. negatief) en *i.p.* ingespoten in een normale cavia nr. 401 voor de 4de dierpassage.

Na 4 dagen volgde op dezelfde wijze de 5de dierpassage: cav. nr. 412. Bij iedere, volgende dierpassage telkens het hartbloed geënt op voedingsbodem.

Al deze proeven, zoowel de *dier-* als de *cultuurproef*, verliepen *negatief*, de caviae na resp. 20, 21, 23 en 24 dagen en de cultuurbuisjes na minstens 4 weken weggedaan.

B. 7.12.1926: Cavia nr. 400 ingespoten met 2 cc. cultuur(+++) v/d 7de overënting op rattenserum. Verloop zonder koorts, in gewicht toegenomen, p.v.*) en bloed steeds negatief; na 7 dagen 1 cc. hartbloed (microsc. negatief) afgenomen en *i.p.* ingespoten in een cavia nr. 411 voor de 3de dierpassage. Geen bijzonderheden, p.v. en bloed neg. Na 6 dagen hiervan weer 1 cc. hartbloed (lept.*) neg.) afgenomen voor de 4de dierpassage, en *i.p.* ingespoten in cav. nr. 425. Dit laatste proefdier met temp. verhoogingen, p.v. en bloed steeds negatief.

Als bij A werden hierbij ook cultuurproeven v/h. hartbloed aangelegd met hetzelfde resultaat.

De caviae na resp. 23, 24 en 22 dagen als *negatief* weggedaan. (Nrs. 400, 411 en 425).

Proef 2.

Cavia nr. 369 i.p. ingespoten met 1 cc. cult.*) (+++) *WaA* v/d 3de

---

*) i. p. = intraperitoneaal. p. v. = peritoneaal vocht.
++++ = zeer dichte cultuur.
+++ = dichte cultuur.
++ = veel leptospiren per gezichtsveld (Oc. 4, obj. C. Zeiss).
\+ = eenige " " " " "
lept. = leptospiren. cult. = cultuur.

overënting op rattenserum; na 1 u. in het p.v. veel lept., na $3^1/_2$ u. minder, na 6 u. enkele exemplaren en na 23 u. negatief. Proefdier steeds gezond, nimmer meer lept. aantoonbaar, evenmin in het bloed; na 20 dagen proef als *negatief* afgebroken.

Proef 3.

4.12.1926: Cavia nr. 397 *i.p.* ingespoten met $2^1/_2$ cc. cult. *WaA* v/d 4de overënting op rattenserum; na $2^1/_2$ u. in p.v. lept., buikpunctaat (1/10 cc.) *i.p.* ingespoten voor de 2de dierpassage in cavia nr. 398.

Het eerste proefdier steeds gezond en in gewicht toegenomen, geen lept. in p.v. of bloed aantoonbaar; na 38 dagen als *negatief* weggedaan.

Bij het 2de passagedier buikpunctaat na $2^1/_2$ u. negatief; na 5 dagen temp. 39 en p.v. negatief; 1 cc. hartbloed afgenomen voor de 3de dierpassage (cavia nr. 409); temp. de volgende dagen tusschen 39.5° en 40.6° C., doch p.v. en bloed steeds negatief; na 13 dagen bij een lich. temp. van 40.6 nogmaals hartbloed afgenomen voor een tweede cavia van de 3de passage (nr. 423). Het 2de passagedier, cavia nr. 398, *stierf* 18 dagen na de inspuiting onder verschijnselen van *pseudotuberculose*, zonder eenig verschijnsel van Weil of leptospiren in het lichaam.

Cav. nr. 409 *succombeerde* na 19 dagen aan *dezelfde* afwijking zonder ooit lept. in p.v. of bloed te vertoonen; 14 dagen vóór den dood, dus 5 dagen nà de inspuiting, 1 cc. hartbloed van dit dier afgenomen voor de 4de dierpassage (cavia nr. 416). Deze laatste, behalve met lichte temp. verhoogingen, normaal gebleven en na 22 dagen als *negatief* weggedaan. Evenzoo cavia nr. 423 na 21 dagen.

Proef 4.

20.12.1926: Cavia nr. 426 *intracardiaal* ingespoten met 1 cc. cult. (+++, *WaA* v/d 6de overënting op rattenserum; na 5 min. één leptospira gevonden na lang zoeken in het oorbloed; na $2^1/_2$ en $4^1/_2$ u. negatief, evenzoo na 22 en 46 u. Op den 3den dag temp. 39.4, oorbloed zonder lept.; den 4den dag $^1/_2$ cc. hartbloed afgenomen en *i.p.* ingespoten in een cavia voor de 2de dierpassage (nr. 433).

Cavia nr. 426 ged. de eerste 8 dagen met temp. verhoogingen, zonder lept. in het bloed, later geheel normaal en na 22 dagen als *negatief* weggedaan.

Cavia nr. 433 eveneens met temp. verhoogingen gedurende de eerste 5 dagen, later geheel hersteld; nooit lept. in p.v. of bloed aan te toonen; na 21 dagen als *negatief* weggedaan.

Proef 5.

24.12.1926: Cavia nr. 436 *i.p.* ingespoten met 2 cc. cult. (+++) *WaA* v/d 8ste overënting op rattenserum; 3 dagen later *dood* aan *pseudotuberculose* zonder eenig Weilverschijnsel of lept. in de organen.

Proef 6.

4.1.1927: Cavia nr. 439 *intracardiaal* ingespoten met $1^1/_2$ cc. cult. (+++) *WaA* afkomstig van de 8ste overënting op rattenserum en gedurende 2 etmalen gemengd met een gelijke hoeveelheid onverdund caviabloed ter *„gewenning"* hieraan; 1 u. na de inspuiting geen lept. in oorbloed aantoonbaar; op den 15den dag temp. van 39, bloed negatief, overigens proefdier geheel *normaal*, na 20 dagen als zoodanig weggedaan.

Proef 7.

5.1.1927: Cavia nr. 440 *intracardiaal* ingespoten met 1 cc. cult. (+++) *WaA* v/d 8ste overënting op rattenserum; na 5 min. 1 lept. teruggevonden in oorbloed, na 20 min. niet meer, evenmin na $4^1/_2$ u. Gedurende eenige dagen temp. verhoogingen tot 39.1, bloed evenwel negatief, later geheel hersteld en na 21 dagen als *negatief* weggedaan.

Proef 8.

19.1.1927: Cavia nr. 445 *i.p.* ingespoten met 2 cc. cult.(+++) *WaA* v/d 12de overënting op rattenserum; na $3^1/_2$ u. p.v. met lept., na 20 u. negatief. Na 8 dagen cavia met temp. van 39, doch p.v. en bloed negatief. Daarna dier geheel normaal en na 30 dagen als *negatief* weggedaan.

Proef 9.

4.4.1927: Cavia nr. 520 *i.p.* ingespoten met 2 cc. cult. (++) *WaA* v/d 20ste overënting op rattenserum; den volgenden dag geen lept. meer in p.v., proefdier steeds gezond en na 21 dagen als *negatief* weggedaan.

Proef 10.

21.4.1927: Cavia nr. 532 *i.p.* ingespoten met 2 cc. cult. (++) *WaZ* v/d 20ste overënting op rattenserum; den volgenden dag p.v. negatief, den 2den dag temp. 39.1, p.v. negatief; den 5den dag opnieuw temp. verhooging van 39.2, p.v. en bloed steeds negatief. Na 8 dagen cavia *doodgemaakt*, organen normaal, geen leptospiren aan te toonen; de emulsie der nieren ingespoten *i.p.* in caviae nrs. 536 en 537 voor de 2de dierpassage. Deze bleven steeds normaal, geen leptospiren aantoonbaar, na 29 dagen als *negatief* weggedaan.

Proef 11.

12.5.1927: Cavia nr. 541 *i.p.* ingespoten met 3 cc. cult.(++) *WaO* v/d 20ste overënting op rattenserum, den volgenden dag en later p.v. negatief, steeds gezond gebleven, na 24 dagen als *negatief* weggedaan.

Proef 12.

17.5.1927: Cavia nr. 555 *i.p.* ingespoten met $2^1/_2$ cc. cult. (+++) *WaZ* v/d 24ste overënting op rattenserum; na 1 u. nog talrijke (++) lept. in p.v., na 2 u. slechts enkele(+), na 4 u. 2 exemplaren in het heele praeparaat, na 7 u. negatief. Na 1 dag 1 cc. hartbloed afgenomen en *i.p.* ingespoten in cavia nr. 558 voor de 2de dierpassage.

Cavia nr. 555 steeds gezond gebleven en na 23 dagen als *negatief* weggedaan. Het tweede passagedier in de eerste dagen met temp. verhoogingen tot 39.2, doch p.v. negatief, later geheel *hersteld* en na 29 dagen *herënt* met een *Weilstam, exitus* na 5 dagen onder typische *Weil*-verschijnselen (icterus en bloedingen) met lept. in den lever.

Proef 13.

17.5.1927: Cavia nr. 556 *i.p.* ingespoten met $2^1/_2$ cc. cult. (+++) *WaZ* v/d 25ste overënting op rattenserum; 2 dagen later geen lept. in p.v.; 1 cc. hartbloed afgenomen en *i.p.* ingespoten in cavia nr. 559 voor de 2de dierpassage.

Cavia nr. 556 steeds *gezond*, na 23 dagen *herënt* met *Weilstam, exitus* na 7 dagen onder *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen) met lept. in den lever.

Het passagadier nr. 559 steeds *gezond*, nooit lept. in p.v. aantoonbaar; na 28 dagen eveneens *herënt* met *Weilstam, exitus* na 5 dagen onder *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen) met lept. in den lever.

Proef 14.

17.5.1927: Cavia nr. 557 *i.p.* ingespoten met 2 cc. cult. (+++) *WaZ* v/d 21ste overënting op rattenserum, na 3 dagen p.v. negatief, 1 cc. hartbloed afgenomen en *i.p.* ingespoten in cavia nr. 563 voor de 2de dierpassage.

Cavia nr. 557 *zonder* ziekteverschijnselen, na 30 dagen *herënt* met *Weilstam, exitus* na 4 dagen onder *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen) met lept. in den lever.

Cavia nr. 563 eveneens *zonder* verschijnselen, in p.v. nimmer lept. aantoonbaar, na 3 dagen 1 cc. hartbloed afgenomen en *i.p.* ingespoten in cavia nr. 564 voor de 3de dierpassage. Cavia nr. 563 na 27 dagen *herënt*

met *Weilstam, exitus* na 6 dagen met *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen).

Cavia nr. 564 (3de dierpassage) steeds gezond en als *negatief* na 49 dagen weggedaan.

Proef 15.

25.5.1927: Cavia nr. 568 *intracardiaal* ingespoten met $1^1/_2$ cc. cult. (++) *WaZ* v/d 29ste overënting op rattenserum; na 15 min. geen lept. in oorbloed.

Na 1, 2, 3, 5, 7 en 9 dagen werden *culturen* aangelegd van het *hartbloed*, doch alle met *negatief* resultaat, en na 1 maand weggedaan. De cavia steeds *gezond* en na 22 dagen *herënt* met *Weilstam, exitus* na 5 dagen onder *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen) met lept. in den lever.

Proef 16.

30.5.1927: Cavia nr. 579 *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult.(+++) *WaA* v/d 30ste overënting op rattenserum; na $19^1/_2$ u. geen lept. in p.v.; hartbloed geënt op cultuurbuis, en cavia voor den 2den maal *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult.(+++) *WaA* v/d 29ste overënting op rattenserum. Den volgenden dag weer een cultuurbuis geënt met hartbloed en de cavia nogmaals *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult.(+++) *WaA* v/d 29ste overënting op rattenserum; na $2^1/_2$ u. p.v. negatief.

De *culturen* van het *hartbloed* verder nog aangelegd 3, 4, 9 en 11 dagen na de eerste inspuiting v/d cavia, alle met *negatief* resultaat, en na een maand weggedaan.

De cavia steeds *gezond* en zonder verschijnselen, na 17 dagen *herënt* met *Weilstam, exitus* na 5 dagen onder *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen) met lept. in den lever.

Proef 17.

8.6.1927: Cavia nr. 593 *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult.(+++) *WaA* v/d 29ste overënting op rattenserum. Na 2 dagen *cultuur* aangelegd van het *hartbloed*, steeds *negatief* gebleven en na een maand weggedaan.

De cavia ziek en *stierf* na 7 dagen *zonder* eenig *Weilverschijnsel* en zonder lept. in de organen.

Proef 18.

15.6.1927: Cavia nr. 608 *i.p.* ingespoten met 5 cc. cult.(+++) *WaZ* v/d 30ste overënting op rattenserum. Na 1, 2, 3, 5, 6, 8, 10, 11 en 12 dagen

hartbloed geënt op *cultuurbuis,* alle culturen *negatief* gebleven en na een maand weggedaan.

De cavia steeds *gezond* gebleven en na 33 dagen als *negatief* weggedaan.

Proef 19.

16.6.1927: Cavia nr. 617 *i.p.* ingespoten met 5 cc. cult.(+++) *WaZ* v/d 30ste overënting op rattenserum. *Culturen* van het *hartbloed* worden aangelegd op den 1, 2, 4, 5, 6, 9, 12 en 18den dag na de injectie; alle buisjes *negatief,* na een maand weggedaan. De cavia behalve op den 5, 6 en 13den dag na de injectie met een temp. van 39.5, *normaal* gebleven en na een maand als *negatief* afgeschreven.

Proef 20.

25.6.1927: Cavia nr. 620 uit M e d a n *intracardiaal* ingespoten met 1 cc. cult.(+++) *WaO* v/d 30ste overënting op rattenserum; na 2, 3, 5, 9, 11, 14 en 16 dagen *culturen* aangelegd van het *hartbloed;* deze steeds *negatief* en na een maand weggedaan. De cavia met temp. verhoogingen, doch in p.v. en bloed *nimmer leptospiren* aantoonbaar; na 30 dagen *herënt* met een *Weilstam, exitus* na 7 dagen onder *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen) met leptospiren in den lever.

Op den 5den dag na de eerste injectie 1 cc. hartbloed afgenomen en *i.p.* ingespoten in cavia nr. 628, eveneens afkomstig uit M e d a n, voor de 2de dierpassage; hiervan *culturen* aangelegd v/h *hartbloed* 4, 5, 9, 11, 13 en 15 dagen na de injectie, *zonder positief resultaat* (na 1 maand weggedaan). De cavia in het begin met temp. verhoogingen, doch later weer *geheel normaal* en na een maand als *negatief,* — ook het p.v. heeft nimmer leptospiren bevat —, afgeschreven.

Proef 21.

25.6.1927: Cavia nr. 621 uit M e d a n *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult.(+++) *WaZ* v/d 35ste overënting op rattenserum; na 2, 3 en 4 dagen *culturen* aangelegd v/h *hartbloed, negatief* gebleven en na een maand weggedaan. De cavia vanaf het begin met zieken indruk, *succombeerde* na 4 dagen *zonder* eenig teeken van een *Weilinfectie* en zonder leptospiren in de organen.

Proef 22.

29.6.1927: Cavia nr. 624 *i.p.* ingespoten met 5 cc. cult.(+++) *WaZ* v/d 35ste overënting op rattenserum; na 3 u. ++ leptospiren in het p.v., na

5½ u. nog slechts één dood exemplaar, na 8 u. negatief. De cavia met temp. verhoogingen, doch in p.v. geen lept. meer te vinden, *herstelde* later *volkomen* en na 21 dagen als *negatief* weggedaan.

Proef 23.

20.7.1927: Cavia nr. 663 uit M e d a n *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult. *WaZ* v/d 35 en 36ste overënting op rattenserum; na 5 u. ++ leptospiren in p.v. waarvan vele dood; na 6½ u. + lept. in p.v., waaronder doode exemplaren, 1/10 cc. van het p.v. *i.p.* ingespoten in cav. nr. 664 voor de 2de dierpassage.

Cavia nr. 663 met lichte temp. verhoogingen, *culturen* van het *hartbloed* van resp. den 5, 6, 7, 9, 12 en 14den dag *negatief* gebleven en na een maand weggedaan. Het p.v. van de cavia eveneens negatief gebleven en na een maand proefdier als *negatief* weggedaan.

Cavia nr. 664, eveneens uit M e d a n afkomstig, bleef ook *negatief* en de *culturen* van het *hartbloed* van den 5, 7, 9, 12 en 14den dag sloegen niet aan en na een maand als *negatief weggedaan,* evenzoo het *proefdier,* dat steeds *gezond* bleef.

Proef 24.

18.8.1927: Cavia nr. 669 uit M e d a n *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult. (+++) *WaO* v/d 33ste overënting op rattenserum; na 6, 8, 9, 11, 12, 14 en 16 dagen werden *culturen* aangelegd v/h *hartbloed, negatief* gebleven en na een maand weggedaan.

De cavia in het begin met temp. verhoogingen, later *geheel normaal,* na een maand als *negatief* afgeschreven.

Proef 25.

21.9.1927: Cavia nr. 690 *intracardiaal* ingespoten met 1 cc. cult. (++++) *WaZ;* na 5 min. oorbloed negatief, *culturen* aangelegd van het *hartbloed* na 13 en 21 min.; de eerste is na 1 week, en de laatste na 2 weken *positief* geworden. De cavia *gezond* gebleven en na een maand als *negatief* weggedaan.

De *reactie* van de uit het *hartbloed gekweekte leptospiren* tegenover *anti-Weilserum* is 0. Zie verder *proef* 28.

Proef 26.

4.10.1927: Cavia nr. 705 op 3 a c h t e r e e n v o l g e n d e d a g e n *i.p.* ingespoten met 4 cc. cult. (+++) *WaZ;* p.v. en bloed steeds negatief op de volgende dagen; 2 en 4 dagen na de laatste injectie *culturen* aangelegd

van het *hartbloed, negatief* gebleven en na een maand weggedaan. De cavia *gezond gebleven* en na 21 dagen *herënt* met een *Weilstam, icterisch* geworden, doch *stierf* later onder het beeld van *pseudo-tuberculose.*

Proef 27.

4.10.1927: Cavia nr. 706 op 3 achtereenvolgende dagen *i.p.* ingespoten met 4 cc. cult. (+++) *WaO;* p.v. en bloed steeds negatief op de volgende dagen; 2 en 4 dagen na de laatste injectie *culturen* aangelegd van het *hartbloed, negatief* gebleven en na een maand weggedaan; het proefdier na 16 dagen *herënt* met een *Weilstam, exitus* met *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen) met leptospiren in den lever.

Proef 28.

12.10.1927: Cavia nr. 715 *i.p.* ingespoten met een cultuur *WaZ,* die tevoren ged. 13 en 21 min. in de bloedcirculatie van een andere cavia (zie proef 25) is geweest, in een hoeveelheid van $2^1/_2$ en 1 cc. Steeds *gezond* gebleven, na 43 dagen herënt met een *Weilstam, exitus* na 4 dagen onder *typische* verschijnselen (icterus en bloedingen).

Proef 29.

4.11.1927: Cavia nr. 754 *i.p.* ingespoten met 6 c.c. cult. (+++) *WaA, gezond* gebleven, na 10 dagen *doodgemaakt* en de emulsie van lever en nieren, waarin *geen* leptospiren, ingespoten in cavia nr. 764 *i.p.* voor de 2de dierpassage; ook dit dier *gezond* gebleven en na een maand als *negatief* weggedaan.

Proef 30.

4.11.1927: Cavia nr. 755 *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult. (+++) *WaO,* normaal gebleven, na 4 dagen *doodgemaakt,* organen normaal, emulsie van lever en nieren, waarin *geen* leptospiren, *i.p.* ingespoten in cavia nr. 760 voor de 2de dierpassage; ook dit dier bleef normaal en na 6 dagen *doodgemaakt,* en de emulsie van lever en nieren, waarin *geen* leptospiren, *i.p.* ingespoten in cavia nr. 765 voor de 3de dierpassage; eveneens *gezond* gebleven en na een maand als *negatief* weggedaan.

Proef 31.

Een cavia intracardiaal ingespoten met 2 cc. cult. (+++) *WaA;* na 2 min. microscopisch geen leptospiren in oorbloed, dier *doodgemaakt,* in lever, nieren, longen, milt, longen en hersens microscopisch *geen* leptospiren; in hartbloed (na 10 min.) enkele exemplaren.

Proef 32.

Een cavia *intracardiaal* ingespoten met 1½ cc. cult. (+++) van een *avirulenten,* doch tevoren *pathogenen stam* (K); na 2 min. verscheidene leptospiren in oorbloed aanwezig, na 16 min. slechts één; cavia *gezond* gebleven.

Geen lept. meer verder aantoonbaar.

Proef 33.

Een cavia *intracardiaal* ingespoten met 2 cc. cult. (+++) van een avirulenten, doch tevoren *pathogenen stam* (F); na ½ u. oorbloed negatief, na 24 u. ook met triplecentrifugatie geen leptospiren in hartbloed aantoonbaar; proefdier gezond gebleven, nooit weer leptospiren teruggevonden.

Proef 34.

Een cavia *intracardiaal* ingespoten met 1 cc. leptospirenhoudende emulsie (+) van een *virulenten stam* (Weil-Moné); na 5 min. geen leptospiren in oorbloed aantoonbaar, na 3 dagen weer wel; cavia na 5 dagen *dood* onder *typische* verschijnselen.

Proef 35.

Een cavia *intracardiaal* ingespoten met 2 cc. leptospirenhoudende emulsie (+) van een *zeer pathogenen stam* (Ha); oorbloed steeds positief, ofschoon in het begin eerst daling van het aantal, om later weer regelmatig te vermeerderen tot ++ leptospiren op den 3den dag na de injectie. Den volgenden dag *exitus* onder *typische* verschijnselen met veel lept. in den lever.

Proef 36.

8.2.1930: Cavia nr. 10 *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult. *WaA* v/d 113de overenting; na 1 u. geen lept. in oorbloed, evenmin na 24 u. in p. v. en oorbloed, nu voor de 2de maal met 6 cc. cult. *WaA i.p.* ingespoten; den volgenden dag voor de 3de maal met 4 cc. *WaA i.p.* ingespoten, nadat oorbloed negatief gebleken was; den 4den dag nogmaals met 8 cc. cult *WaA* i. p. ingespoten, 1½ u. later was het oorbloed negatief. Den volgenden dag *stierf* het dier, zonder *Weilverschijnselen* en zonder leptospiren in lever, p. v. en bloed.

Proef 37.

8.2.1930: Cavia nr. 11 *i.p.* ingespoten met 6 cc. cult. *WaA* v/d 113de

overenting; na 1 u. geen lept. in oorbloed, evenmin na 24 u. in p. v. en oorbloed, voor de 2de maal met 6 cc. cult. *WaA i.p.* ingespoten; den volgenden dag oorbloed negatief, voor de 3de maal met 5 cc. cult. *WaA i.p.* ingespoten; den 4den dag nogmaals met 8 cc. cult. *WaA i.p.* ingespoten, na 1 u. oorbloed negatief; resp. 4, 5, 6, 7, 9, 10 en 11 dagen na de eerste injectie *culturen* aangelegd van het *hartbloed,* waarin miscroscopisch geen lept.; *culturen* gedurende 1 maand bewaard, steeds *negatief* gebleven en weggedaan.

De cavia 15 dagen na de eerste injectie *dood* aan *pseudotuberculose* zonder Weilverschijnselen, zonder lept. in lever en p.v.

Proef 38.

25.2.1930: Cavia nr. 16 *i.p.* ingespoten met 9 cc. cult. *WaA* v/d 114de overenting; den volgenden dag in urine geen lept., nogmaals met $9^1/_2$ cc. cult. *WaA* v/d 115de en 116de overënting *i.p.* ingespoten; resp. 3, 4, 6, 7, 9 en 13 dagen na de eerste injectie *culturen* aangelegd van het *hartbloed,* die steeds *negatief* zijn gebleven en na een maand weggedaan. Urine van den 6den dag negatief; cavia na 19 dagen *dood* aan *pseudotuberculose* zonder *Weilverschijnselen* en zonder lept. in lever en p.v.

Proef 39.

12.5.1930: Cavia nr. 22 *i.p.* ingespoten met $9^1/_2$ cc. cult. *WaA* v/d 121 overenting; na $3^1/_2$ u. oorbloed negatief; na 4 u. in p.v. leptospiren, veel minder dan in het ingespoten materiaal, enkele exemparen dood; nu weer $9^1/_2$ cc. van dezelfde cultuur *i.p.* ingespoten, 1 u. later oorbloed negatief; 23 u. na de eerste inspuiting dit bloed eveneens negatief; in p.v. veel leucocyten; resp. 2, 7 en 15 dagen na de inspuiting *culturen* aangelegd van het *hartbloed,* alle *negatief* gebleven en na 1 maand weggedaan. Het hartbloed is 7 dagen na de inspuiting in een hoeveelheid van 1 cc. *i.p.* ingespoten in cav. 30 voor de 2de dierpassage.

Cav. 22 is *gezond* gebleven en na 25 dagen *doodgemaakt; geen afwijkingen,* en *geen* leptospiren in lever, p.v. en nieren; de emulsie van deze laatste *i.p.* ingespoten in cav. 43 voor de 2de dierpassage, die 6 dagen later *stierf* aan *pseudo-t.b.c.* zonder leptospiren in lever, p.v. en nieren. Bij cav. 30 hartpunctie 4 dagen na de inspuiting voor *cultuur* van het *bloed,* die na 1 maand als *negatief* werd weggedaan; de cavia is 2 dagen na de hartpunctie *doodgegaan* zonder icterus of bloedingen en zonder leptospiren in den lever.

Proef 40.

15.5.1930: Cav. nr. 24 *i.p.* ingespoten met 9 cc. cult. *WaA* v/d 123ste

overenting; na resp. 15 en 30 min. en 1 uur oorbloed negatief; na 3 u. nogmaals 10 cc. van dezelfde cultuur *i.p.* ingespoten, 15 min. later oorbloed negatief; den volgenden dag zeer veel leucocyten in p.v., doch geen leptospirae. Na resp. 2 en 4 dagen *culturen* aangelegd van het *hartbloed,* die na 1 maand als *negatief* werden weggedaan.

Den 4den dag na de inspuiting werd 1 cc. van het hartbloed *i.p.* ingespoten in cavia nr. 31; van dit dier werd 3 dagen later het hartbloed geënt op voedingsbodem en *i.p.* ingespoten in cav. nr. 38. De *cultuur* na 1 maand als *negatief* weggedaan, de cavia na 14 dagen *doodgegaan* zonder eenig *Weilverschijnsel* en zonder leptospiren in lever en nieren.

Cavia nr. 31 *gezond* gebleven en na 1 maand als *negatief* afgeschreven.

Cavia nr. 24 eveneens *gezond* gebleven en na 22 dagen *doodgemaakt,* in de nieren *geen* leptospiren; de emulsie dezer organen *i.p.* ingespoten in cavia nr. 44 voor de 2de dierpassage; dit dier *gezond* gebleven en na een maand als *negatief* weggedaan.

Proef 41.

20.5.1930: Cavia nr. 32 *i.p.* ingespoten met 11 cc. cult. *WaA* v/d 123ste overenting; na 15 min. geen leptospiren in oorbloed en urine; 2 uren later nogmaals $7^1/_2$ cc. van dezelfde cultuur *i.p.* ingespoten; na 3 uren aantal leptospiren in p.v. sterk verminderd, hiervan een *cultuur* gemaakt, die later serologisch *niet* veranderd bleek te zijn.

Den volgenden dag het hartbloed (1 cc) *i.p.* ingespoten in cav. nr. 34 voor de 2de dierpassage en een cultuurbuis geënt; beide verliepen *negatief* en na 1 maand weggedaan. Van de cavia werd 5 dagen na de inspuiting het hartbloed *i.p.* ingespoten in cav. nr. 41 voor de 3de dierpassage en een *cultuurbuis* geënt; ook deze werden na een maand als negatief weggedaan.

Cavia nr. 32 *gezond* gebleven en na 17 dagen *doodgemaakt*; in de nieren *geen* leptospiren, de emulsie dezer organen *i.p.* ingespoten in cav. nr. 45 voor de 2de dierpassage; dit dier *gezond* gebleven en na een maand als *negatief* afgeschreven.

Proef 42.

22.5.1930: Cavia nr. 35 *i.p.* ingespoten met $9^1/_2$ cc. cult. *WaA* van de 124ste overenting; na 2 uren nogmaals *i.p.* ingespoten $10^1/_2$ cc. van *dezelfde* cultuur.

Den volgenden dag het *hartbloed* geënt op een *cultuurbuisje*; de cavia dood aan de hartpunctie, bij de sectie *geen* leptospiren in p.v. en de organen.

..*Cultuurbuis* na een maand nog *negatief,* weggedaan.

Proef 43.

23.5.1930: Cavia nr. 37 *i.p.* ingespoten met 9½ cc. cult. *WaZ*; 5 u. later nogmaals *i.p.* ingespoten met 8½ cc. van *dezelfde* cultuur, nadat met het p.v., waarin het aantal leptospiren zeer sterk verminderd was, een cultuurbuis was geënt; de hiermee verkregen *cultuur* vertoonde later *geen* verschil met den *uitgangsstam.*

De cavia is *gezond* gebleven, na 14 dagen *doodgemaakt*; in de organen *geen* leptospiren, de emulsie der nieren *i.p.* ingespoten in cavia nr. 46 voor de 2de dierpassage; dit dier *gezond* gebleven en na een maand als *negatief* weggedaan.

Proef 44.

24.5.1930: Cavia nr. 40 *i.p.* ingespoten met 10 cc. cult. *WaZ*; na 2 u. nogmaals 9½ cc. van *dezelfde* cultuur *i.p.* ingespoten, 2 dagen later het hartbloed ingespoten in cavia nr. 42 en geënt op een cultuurbuis.

Cavia nr. 40 *gezond* gebleven en na 19 dagen *doodgemaakt*; in de organen *geen* leptospiren, de emulsie der nieren in cavia nr. 47 *i.p.* ingespoten voor de 2de dierpassage, dit dier *gezond* gebleven en na 27 dagen *herent* met een *vir. Weilstam*; 9 dagen later *dood* onder *typische* verschijnselen: icterus, bloedingen en leptospiren in den lever.

Cavia nr. 42 na 11 dagen *doodgegaan,* geen *typische* afwijkingen en geen leptospiren in lever en nieren.

De *cultuurbuis* was de eerste 2 weken *negatief*, doch na 4 weken bleek ze positief te zijn. Zie bladz. 15.

HOOFDSTUK II.

De beteekenis van het Water en de daarin voorkomende Leptospiren voor de Pathologie.

Op de beteekenis van de saprophytische waterleptospiren zijn we op de voorafgaande bladzijden reeds uitvoerig ingegaan. De meeningen hieromtrent zijn, zooals we zagen, nog verdeeld. Doch aan de rol van het water als bron voor het ontstaan van verschillende leptospirosen, zooals *Weil's ziekte,* de *leptospirosis febrilis Vervoort,* het *„Schlammfieber",* enz. twijfelt niemand meer.

A. Beginnen we met de *ziekte van Weil,* in de literatuur zijn tallooze gevallen beschreven, waarvan het causaal verband met water vaststaat. Men heeft de ziekte zien optreden in aansluiting aan het contact hiermee, hetzij al dan niet uit vrijen wil geschied. Op duidelijke wijze wordt dit verband gedemonstreerd in de volgende citaten.

Schmidt (51) schreef, dat bij een door Forges waargenomen epidemie van een garnizoen slechts die soldaten werden aangetast, die in een bepaalde inrichting zwemonderricht kregen en niet diegenen, die van een andere gelegenheid gebruikmaakten. Verder was het opvallend, dat de epidemie verdween, toen de verdachte zweminrichting naar een andere plaats was overgebracht.

Sawaë (50) constateerde het feit, dat in *Japan* de ziekte niet optrad bij arbeiders, die in „natte" rijstvelden moesten werken, welke vooraf met $Ca(CN)2$ behandeld waren, doch wel bij dezulken uit hetzelfde dorp, waar deze behandeling achterwege was gebleven. Verder werd in *Japan* opgemerkt, dat in mijnen, waar de bodem droog was, *Weil's* ziekte niet voorkwam.

Wat de rol van het water bij het optreden dezer ziekte in *Nederland* betreft, ook hier is deze een belangrijke. In de periode, dat ik als assistent aan het Instituut voor Tropische Hygiëne te *Amsterdam* werkzaam was — van October 1926 tot November 1927 — kon van de *zeventien* gevallen van deze ziekte, waarbij de diagnose langs serologischen en bacteriologischen weg werd gemaakt, 9(+1?) maal d.i. dus ruim 50 %, het water als oorzaak verondersteld worden. Schüffner (53) berekende dit voor het tijdvak eind 1924 tot half 1930 op weinig minder dan 80 % van de 61 gevallen uit de verschillende deelen van *Nederland*.

Hoe stelt men zich nu het verband van het *water* tot deze ziekte voor?

Oorspronkelijk en in den tijd, toen de *Weilleptospira* nog onbekend was, dacht men aan een „*Sumpfmiasma*", hetwelk, door ontleding van organische stoffen in stagneerend water ontwikkeld, den mensch ziek heeft gemaakt. Later meende men, dat het water in zulk een verband tot de ziekte stond, dat het slechts als *broedplaats* voor de overbrengende *insecten* diende. Tegenwoordig echter wordt bijna algemeen aangenomen, dat het water zelf het medium is, waarin de *Weil*leptospira zich ophoudt. Doch de vraag, of deze hierin *primair* voorkomt, dan wel *secundair* door verontreiniging met excrementen, zooals urine van leptospirendragers, er in gebracht wordt, is nog een punt van strijd.

Baermann, Zuelzer en Smits (4, 5, 6) beschouwen, zooals we op de voorgaande bladzijden gezien hebben, alle leptospiren, ook die afkomstig uit water, waar contact met menschelijke of dierlijke leptospirendragers uitgesloten geacht kan worden, als identiek met de *Weilleptospiren*. Volgens deze hypothese moeten de *Weil*verwekkers dus primaire (*autochthone*) waterbewoners zijn. Ook de vondst van Buchanan (6) van primair virulente *Weil*leptospiren op een plaats, waar volgens zijn opgave geen contact met „dragers" mogelijk was, zou hierop kunnen wijzen. Doch anderen, waartoe wij ook ons rekenen, willen het voorkomen der *Weil*leptospiren in water verklaren door verontreiniging met urine van leptospirendragers. Ons lijkt dit minder gedwongen, omdat de kans voor besmetting door rioolratten, die wij als sterk verbreide leptospirendragers kennen, zoo groot is, en omdat tegen de eerstgenoemde hypo-

these *epidemiologische* en *experimenteele* bezwaren zijn in te brengen. Want ware het juist, dat alle in het water levende leptospiren identiek zijn met *Weil*leptospiren en dat zij onder gunstige omstandigheden „infektionstüchtig" zijn, dan is de wanverhouding tusschen de *ubiquiteit* van de leptospiren, (zelfs in de beste drinkwaterleidingen komen ze voor) en het *sporadisch* optreden van *Weil's* ziekte over de gansche wereld moeilijk verklaarbaar. Immers zou volgens genoemde theorie ieder mensch vanaf de geboorte elk oogenblik blootstaan aan een infectie door het water. Of zouden de gestelde *gunstige* voorwaarden voor de leptospiren om te besmetten misschien zoo bijzonder gering zijn, dat het niet vaker tot een explosie van de ziekte komt? Of kan juist het voortdurende immunisatieproces van den mensch door de in het water aanwezige leptospiren de oorzaak zijn, dat hij beschut wordt tegen de ziekte? Indien dit zoo ware, dan zou deze ziekte hoogstens nog bij de nog niet immunen, de *neonati*, te verwachten zijn. De feiten echter leeren anders. We weten immers, dat ook bij ouderen de ziekte voorkomt, en dat sera van *normale* menschen en die van patiënten lijdende aan andere *ziekten* dan *Weil*, zooals typhus e.a. geen *antistoffen* tegen de *Weilleptospira* bevatten.

Verder staan we mede door *eigen* onderzoekingen sceptisch tegenover het standpunt, dat alle *water*leptospiren Weilverwekkers zouden zijn. (Hierover reeds in het voorgaand hoofdstuk). Intusschen willen we de mogelijkheid, dat in het water tevens autochthone *Weil*leptospiren voorkomen, doch naast en in geenerlei verband tot de *saprophytische water*leptospiren staande, ook wel openlaten. Of deze primaire *water-Weil*leptospiren nu echter de directe oorzaak zijn van de *Weil*gevallen na het contact met water, is een andere vraag. We weten, dat voor het tot stand komen van deze ziekte niet alleen noodig is de aanwezigheid van de *Weil*leptospiren, doch tevens is hierbij vereischt een zekere graad van virulentie van deze laatste. Willen we dus bovenstaande vraag in bevestigenden zin beantwoorden, dan moeten we veronderstellen, dat deze autochthone *water-Weil*leptospiren, ook in virulenten vorm in de vrije natuur i.c. het *water* voorkomen. De ervaringen in het laboratorium doen echter zien, dat viru-

lente *Weil*leptospiren in waterig medium gehouden, dus in cultuurbuisjes, reeds spoedig achteruitgaan in het vermogen, om te infecteeren. Willen ze dit behouden, dan is dierpassage op gezette tijden noodzakelijk. Blijft deze te langen tijd achterwege, dan gaat de virulentie, zelfs *onherroepelijk*, verloren. Het lijkt ons niet gewaagd te veronderstellen, dat ditzelfde proces zich in de vrije natuur ook afspeelt bij de eventueel bestaande virulente autochthone water-Weilleptospiren, zoodat deze onmogelijk in direct verband kunnen staan tot de *Weil*gevallen na contact met water. *Virulente Weil*-leptospiren moeten dus wel van buitenaf, van dierlijke „dragers", in het water terechtgekomen zijn. De *ziekte van Weil* is daarom gebonden aan het bestaan van zulke levende „leptospirenreservoirs", ofschoon we ons niet willen ontveinzen, dat voor de badepidemieën buiten *Nederland* deze verklaring niet bevredigend is, zooals Uhlenhuth en Fromme (61) ook terecht hebben opgemerkt, omdat daar niets van een bijzondere rattenplaag werd gemerkt. Voor de rol der „dragers" pleit het feit, dat, zooals de epidemiologie van de ziekte van *Weil* leert, het besmettingsgevaar daar het grootste is, waar het *contact* met deze „dragers", waartoe in de eerste plaats de *rioolrat*, en verder in mindere mate de *hond, veldmuis, veldrat* en *huisrat* behoort, het gunstigt is. Ook het sporadisch optreden der ziekte laat zich langs dezen weg gemakkelijk verklaren.

Men moet echter niet meenen, dat de *frequentie* der ziekte noodzakelijk parallel moet gaan met de *leptospirenindex* dezer dieren in de diverse landen en streken, en dat men in de terzake bestaande onevenredigheid een bewijs mag zien tegen de rol van de rat als verspreider van *Weil*'s ziekte. Want er zijn nog andere factoren, die het morbiditeitscijfer mede beinvloeden.

Zoo b.v. de geaardheid der omgeving, waarin de met de urine der „dragers" geloosde leptospiren terecht komen. Over dit punt zullen we in het volgende hoofdstuk uitvoeriger zijn.

Verder zal de infectiekans grooter worden, naarmate het contact met mogelijk besmet water intensiever is. Zoo bestaat in *tropische* landen de gewoonte, om eenige malen daags een bad te nemen in water van meest niet onberispelijke kwaliteit. Baermann (2) o.a. schrijft de gevallen van *leptospirosis* in

Deli voor een deel hier aan toe. Ook het werken van de arbeiders wekenlang en blootsvoets in drassige terreinen schijnt van beteekenis te zijn. Dit laatste is eveneens geconstateerd in *Japan* bij de bewerking der „natte" rijstvelden. Onder deze omstandigheden is de kans voor een *leptospirosis* grooter dan daar, waar men met eventueel besmet water in geringere mate in aanraking komt.

De *dichtheid* der ratten-„dragers" in een streek is verder een factor, waarmee rekening moet worden gehouden, evenzoo de omstandigheden, waaronder de rat leeft in betrekking tot den mensch. De woningtoestanden en het beroep van dezen laatste spelen hierbij een groote rol. Hoe kleiner de afstand tot de rat, hoe grooter de infectiekans.

Ten slotte kan de onevenredigheid tusschen het *percentage* der „leptospiren-dragers" en de *frequentie* van *Weil*'s ziekte een verklaring vinden in het feit, dat deze laatste, vooral de abortieve vormen, in vele gevallen niet herkend wordt. We herinneren in dit verband aan het feit, dat de ziekte in *Nederland,* toen ze nog niet de aandacht van de medici had, veel en veel minder gediagnostiseerd werd dan in de laatste vijf jaar.

Het water vervult in de *epidemiologie* van *Weil*'s ziekte een dubbele rol. Het lokt de ratten aan, omdat deze zich juist bij voorkeur op waterrijke plaatsen schuilhouden en biedt de met de urine dezer „dragers" uitgescheiden leptospiren een medium, om zich in de vrije natuur te kunnen handhaven.

In vergelijking met de saprophytische *waterleptospiren* is het voorkomen der virulente *Weilverwekkers* in de vrije natuur een zeldzaamheid; behalve Buchanan (8) is het nog niemand gelukt, ze hierin aan te toonen. Ook het relatief lage aantal *Weil*-gevallen is misschien hiervan mede een bewijs. Doch erkend moet worden, dat deze laatste nog aan andere factoren gebonden zijn, behalve aan het voorkomen der *Weil*leptospiren alleen. Het is in de epidemiologie der ziekte bekend, dat niet alle personen, die aan dezelfde infectiekansen hebben blootgestaan, ziek werden. Von Hecker en Otto (16) hebben reeds op het typische feit gewezen, dat bij een badepidemie alleen die soldaten door de ziekte werden aangetast, die vóór het bad een zwaren marsch achter den rug hebben gehad. Genoemde auteurs meenden dit te verklaren door de vermindering van het

weerstandsvermogen, ten gevolge van de vermoeienis. Een andere mogelijkheid voor de grootere kans van besmetting was de aanwezigheid van huidlaesies, veroorzaakt door den marsch, en geschikt om als port d'entrée voor de *Weil*leptospiren te dienen. Feitelijk bevordert ook het sterke transpireeren, gepaard met maceratie van de huid, den toegang tot het lichaam van de aggressief infectieuse leptospiren.

Dat de ziekte zoo vaak bij gevallen van *submersie* voorkomt, wil men toeschrijven aan het feit, dat hierbij het besmette water over een breed oppervlak (aspiratie van het water!) in contact komt met het menschelijk organisme.

B. De *leptospirosis febrilis*. Hiervan is volgens Baermann (2) voor een deel der gevallen de watergenese duidelijk.

Het ziektebeeld herinnert aan een lichte *Weilinfectie*. In het algemeen zijn de symptomen: duizeligheid, hoofdpijn, pijn in de ledematen en gewrichten, *roode oogen*, exantheem, koorts van wisselend type, albuminurie, buikpijn en diarrhee; al of geen leucocytose.

Vervoort, die deze ziekte het eerst als een *leptospirosis* herkend heeft, en den verwekker *leptospira pyrogenes* noemde, gaf in 1927 het Instituut voor Tropische Hygiene een *vijftal* stammen hiervan, waarvan enkele tot de eerst geïsoleerde exemplaren behooren, ter onderzoek met de respectievelijke beknopte ziektegeschiedenissen, welke we hieronder overnemen:

1. Ang Tjae Lem. 28.9.'29.

Koortsduur: 9 dagen.
Anamnese: 2 dagen koorts, geen pijnen.
Status Praes.: geen roode oogen, geen exantheem in het begin, later een bloederige blaas op bovenbeen, wat roode oogen.
Leucocyten: 14500.

Genezen.

2. Samidjojo. Febr. '25.

Koortsduur: 5 dagen.
Anamnese: 3 dagen koorts, hoofdpijn, pijn in de lendenen.
Status Praes.: roode oogen, wat droge ronchi.
Leucocyten: 9700.

Genezen.

3. Kamidi. Juli '22.

Anamnese: 6 dagen.
Status Praes.: roode oogen, 7 dagen na begin koorts, vervelling op den rug.

Genezen.

4. Pario. Maart '23.

Koortsduur: 8 dagen.
Anamnese: 2 dagen koorts en duizelig, geen pijnen.
Status Praes.: roode oogen, tong beslagen.

Genezen.

5. Sowirono. Juli '22.

Koortsduur: 4 dagen.
Anamnese: 2 dagen koorts.
Status Praes.: geen roode oogen, geen exantheem.

Genezen.

Aangezien deze leptospirenstammen, waaraan Vervoort, zooals gezegd, oorspronkelijk den naam *Leptospira pyrogenes* heeft gegeven, tevoren nog niet zijn geclassificeerd, lijkt het ons niet ondienstig, hier een verslag van ons onderzoek hieromtrent te doen volgen.

Wij hebben genoemde stammen èn serologisch (*tabel* 7) èn immunologisch (*tabel* 8) vergeleken met de andere leptospirensoorten, z. a. de *Europeesche* en *Amerikaansche* (L. icteroides) *Weil*stammen, den *hebdomadis*stam van de Japansche Nanukayami, en de van Baermann afkomstige stammen *Salinem, Rachmat, Djojowartono* en *Pawirosendjojo,* waarmee ze overigens morphologisch geen verschillen vertoonen. Deze *Baermann*-stammen, eveneens afkomstig van patiënten uit *Deli* met nagenoeg dezelfde klinische verschijnselen als de *leptospirosis febrilis Vervoort,* zijn reeds door Wolff (71) en Mochtar (33) onderzocht, zoodat we hiervoor kortheidshalve naar den resp. publicaties willen verwijzen.

TABEL 7. AGGLUTINATIE- EN

Leptospiren-stammen:		Antisera van		
		Weil-Nederland.	„Pawirosendjojo" (*Baermann*).	„Sowirono" (*Vervoort*).
		titer: 25.000	titer: 25.000	titer: 25.000
	Weil-Nederland	25.000	2.500	500
	Weil-Berlijn	25.000	2.500	—
	Weil-London	25.000	2.500	—
	Lept. icteroides	25.000	2.500	—
Baermann (Deli).	„Pawirosendjojo"	5.000	25.000	25
	„Salinem"	500	50	—
	„Rachmat"	100	250	25
	„Djojowartono"	100	500	25
Vervoort (Deli).	„Ang Tjae Lem"	5.000	25.000	—
	„Samidjojo"	1.000	1.000	—
	„Kamidi"	1.000	500	—
	„Pario"	1.000	250	—
	„Sowirono"	5.000	250	25.000
	Hebdomadis	0	0	0
	rat *Deli* (*Vervoort*)	25	500	0
Wolff (Deli).	Pat. 100	1.000	—	0
	„ 200	25	—	0
	„ 300	1.000	—	2.500
	Hond A	250	—	0
	„ C	0	—	0
	„ D	0	—	0

LYSISPROEVEN.

stammen.				
„Salinem" (*Baermann*).	„Rachmat" (*Baermann*).	„Djojowartono" (*Baermann*).	Hebdomadis.	Rat *Deli* (*Vervoort*).
ter: 25.000	titer: 50.000	titer: 25.000	titer: 10.000	titer: 25.000
250	50	50	0	—
250	250	250	0	—
—	250	250	0	—
250	250	250	0	—
50	250	500	0	10
25.000	25	50	0	0
250	50.000	25.000	0	10
100	25.000	25.000	0	25
25	25	50	0	—
25.000	25	25	0	—
10.000	25	25	0	—
10.000	50	25	0	—
5.000	50	50	0	0
0	0	—	10.000	—
25	100	—	0	25.000
25	0	—	—	0
0	1.000	—	—	0
25.000	10	—	—	0
0	0	—	—	25.000
0	0	—	—	0
0	0	—	—	0

1. Stam *Ang Tjae Lem* geeft met het antiserum van den B.stam *Pawirosendjojo* (titer: 25.000) een agglutinatie tot een verdunning van 25.000. Met het anti-*Weil*serum (titer: 25.000) geven beide eerstgenoemde stammen een *gelijke* reactie van 5.000. Immunologisch gedragen de stammen *Ang Tjae Lem* en *Pawirosendjojo* zich gelijk tegenover den *Weil*stam: de voorafgaande immunisatie van een cavia met een der eerste stammen geeft bescherming tegen een anders doodelijke infectie met den *Weil*stam.

Uit een en ander moeten we dus den stam *Ang Tjae Lem* als identiek met *Pawirosendjojo* beschouwen. Beide stammen staan tevens den *Weil*stam zeer nabij.

Tegenover het antiserum van *Salinem* en *Rachmat* bestaat slechts een uiterst geringe affiniteit: 1 : 25, bij een titer van 25 à 50.000 van het antiserum, een reactie dus, welke we practisch mogen ignoreeren.

2. Stam *Samidjojo* vertoont een mede-agglutinatie tot 1 : 1000 met het anti-*Weil*serum (titer 25.000) en bereikt de titergrens 1 : 25.000 met het antiserum *Salinem*. Immunologisch bestaat er eenige overeenkomst met *Weil*, omdat de immunisatie met *Samidjojo* bescherming geeft tegen een doodelijke infectie met *Weil*, een overeenkomst tevens met *Salinem*, omdat deze in sommige gevallen (*zie tabel* 8) immuniteit geeft tegen een *Weil*infectie, z. a. ook uit de onderzoekingen van Mochtar (33) is gebleken. De stam *Samidjojo* is dus identiek met *Salinem*.

Zonder de feiten dwang aan te doen, kunnen ook de stammen *Kamidi* en *Pario* als hiermede gelijk beschouwd worden, al wordt de titergrens niet geheel bereikt (10000 tegen 25000).

3. Stam *Sowirono* geeft met het anti-*Weil*serum (titer 25.000) een reactie tot een verdunning van 2500, en met het antiserum *Salinem* (titer 25.000) tot een verdunning van 5000.

Deze stam staat dus serologisch tusschen den *Weil*- en *Salinem*stam in, en vertoont immunologisch eenige overeenkomst met *Weil*, omdat hij bij de kruisimmunisatieproef een bescherming geeft tegen de infectie met dezen laatste.

De uitkomsten van deze onderzoekingen laten dus een bonte variatie in de serologische en immunologische eigenschappen van de Sumatraansche (Deli) *leptospiras* *) zien,

*) De in *Deli* en *Weltevreden* geïsoleerde *rat*- en *honden*stammen (Vervoort (zie *tabel* 7), Sardjito en Postmus (48), Kouwenaar en Wolff (27)) vertoonen eveneens geheel andere reacties. Zie verder ook *tabel* 7.

hetgeen we tot nu toe bij de Europeesche *Weilstammen* missen. In het Instituut voor Tropische Hygiene te *Amsterdam* zijn 17 leptospirenstammen, afkomstig van *Nederlandsche Weil*patiënten onderzocht, 1 stam *Weil-Berlijn*, 1 stam *Weil-Londen*, 6 *leptospira icteroidesstammen*, afkomstig van voor gele koortslijders aangeziene *Weil*patiënten in *Amerika* (*Noguchi*), die alle met elkaar identiek blijken te zijn. Ook nog van een 35tal andere *Nederlandsche Weil*gevallen, die langs serologischen weg werden gediagnostiseerd, moeten we den verwekker als gelijk met deze beschouwen. *)

We hebben 43 uit in *Nederland* gevangen *ratten*, 1 uit een cavia en 2 uit *honden* afkomstige *stammen* (zie *tabel* 6 en 12) onderzocht, die alle in geen enkel opzicht van den typischen *Weil*stam verschillen.

Hoe staat nu de *kliniek* hiertegenover?

Bij onze Europeesche „einheitliche" *Weil*stammen loopt het klinische beeld reeds zeer ver uiteen. Lichte infecties zonder icterus kunnen naast zware met icterus verloopende gevallen voorkomen. Bij epidemieën was in het algemeen slechts een derde deel der gevallen, dat door icterus werd gekenmerkt.

In Sumatra (*Deli*), waar we met een in serologisch opzicht veelheid van leptospirentypen te doen hebben, heeft het klinische beeld een nog veel bonter aanzien, zonder dat het tot nu toe mogelijk is geweest aan den eenen of anderen leptospirenstam een bijzonder klinisch karakter toe te kennen.

De stam *Ang Tjae Lem*, die serologisch en immunologisch veel, doch niet geheel op den *Nederlandschen Weilstam* gelijkt, heeft geen typisch *Weil*beeld gegeven, daarentegen veroorzaakte de met dezen stam identieke *Pawirosendjojo* wèl een typisch *Weil*beeld (met letalen afloop!) Hier zien we dus, dat

---

*) Er is in de publicaties van het Instituut vroeger wel van twee *rat*stammen en een *menschen*stam gesproken, die, geheel afwijkend van den echten *Europeeschen Weil*stam, het karakter van den *Baermann*stam *Rachmat* hadden. Op grond van latere ondervindingen moeten we heden aannemen, dat deze *afwijkende* stammen *F*, *K* en *B. G. O.* op toevallige infecties van proefdieren met den toen zeer virulenten stam *Rachmat* berusten. Sinds wij de mogelijkheid van zulke fouten uitgeschakeld hebben, is, ondanks zeer veel kweeken van leptospirenstammen uit *ratten*, *honden*, en natuurlijk ook uit den *mensch*, hier in Nederland nooit meer een dergelijke, zoo sterk *afwijkende* variante gevonden.

twee *identieke* stammen ziektebeelden hebben opgewekt, welke klinisch *niet* op elkaar (*Ang Tjae Lem-Pawirosendjojo*) geleken, en dat aan den anderen kant twee ziektegevallen (*Pawirosendjojo-Nederlandsche Weil*) met niet geheel gelijke verwekkers hetzelfde klinisch beeld vertoonden.

De stam *Rachmat*, die serologisch en immunologisch geheel van den *Weil*stam afwijkt, veroorzaakte een ziektebeeld met veel gelijkenis met de *leptospirosis febrilis Vervoort*, waarvan de verwekkers weer geheel van „Rachmat" verschillen. De stam Djojowartono daarentegen, die *serologisch* identiek is met den stam *Rachmat*, heeft wel een typisch *Weil*beeld gegeven. Al deze stammen, in zoo vele opzichten onderling verschillend, gaven bij caviae hetzelfde ziektebeeld, n.l. het typische beeld van *Weil*'s ziekte.

Dis is de reden geweest, waarom Baermann en Zuelzer alle verschillen, zoowel serologische als klinische, hebben laten vallen, en alle daar voorkomende *leptospirosen*, al zijn de serologische verschillen nog zoo groot, als een eenheid beschouwen. Zij gaan daarbij uit van het beginsel, dat aan de leptospiren in *Deli* in het geheel geen serologische standvastigheid toekomt, m.a.w. dat de stammen voortdurend van karakter wisselen.

Hoe verleidelijk dit standpunt ook in *Deli* moge wezen, we kunnen ons daar niet mee vereenigen, waar we in *Nederland*, en ook in *Duitschland, Frankrijk* en *Amerika*, alleen maar *Weil*-stammen gevonden hebben, welke een overeenstemmende antigene structuur vertoonen. Alleen staat er naast het *Schlammfieber* (zie hieronder), waarbij een geheel afwijkende leptospira gevonden is. Bij deze ziekte echter zijn het ook de klinische en epidemiologische verschillen, die ons veroorloven ze van de *ziekte van Weil* scherp te scheiden.

Nu lijkt het ons na onderzoek van het materiaal, dat Baermann en Vervoort ons welwillend ter dispositie stelde, dat men in *Sumatra* (*Deli*) wel bepaalde *typen* zou kunnen onderscheiden. Vandaar, dat we spreken van type *Rachmat, Salinem, Pawirosendjojo* en *Sowirono*. Vooral, sinds we zulke typen ook van andere zijde ontvangen hebben, werden we in deze opvatting versterkt. We gelooven daarom ook, dat Baermann en Zuelzer te vroeg opgegeven hebben hun materiaal in *typen* onder te verdeelen en meenen, dat het de moeite waard is bij nieuwere

TABEL 8.

KRUIS-IMMUNISATIE-PROEVEN.

Eerste infectie met den stam.		Tijdsverloop tusschen de *eerste* en *tweede* infectie.	*Tweede* infectie met den stam.	Afloop van de *herënting.*	*Contrôle-dieren.*
Pawirosendjojo	*Baermann*-stammen.	31 dagen	Weil-Nederland	genezen	dood op den 6den dag
Salinem		10 „	„	dood na 6 dagen	„ „ „ 8sten „
Salinem		47 „	„	dood na 9 dagen	„ „ „ 5den „
Salinem		47 „	„	genezen	„ „ „ 5den „
Rachmat		11 „	„	dood na 10 dagen	„ „ „ 8sten „
Samidjojo	*Vervoort*-stammen.	17 „	„	genezen	„ „ „ 5den „
Kamidi		17 „	„	dood na 15 dagen	„ „ „ 5den „
Pario		17 „	„	genezen	„ „ „ 5den „
Ang Tjae Lem		17 „	„	„	„ „ „ 5den „
Sowirono		17 „	„	„	„ „ „ 5den „
Sowirono		8 „	„	„	„ „ „ 5den „
Weil-Nederland (*avirulent*)	*Contrôle.*	10 „	„	„	„ „ „ 8sten „
Weil-Nederland (*avirulent*)		44 „	„	„	„ „ „ 5den „

onderzoekingen hiermee in het bijzonder rekening te houden.

Den naam *leptospirosis febrilis* willen we voorloopig, zoo lang dit vraagstuk nog hangende is, behouden voor de *aparte* groep van ziekten in *Deli,* naar analogie voor de *Japansche Nanukayami,* waarschijnlijk uit verschillende *varianten* bestaande.

C. De *derde* ziekte als gevolg van het contact met water en welke men eveneens als een *leptospirosis* heeft willen beschouwen, is het *Schlammfieber.*

Prausnitz en Lubinski (46) beschreven in 1926 een epidemie van deze ziekte in *Sileżie,* welke in aansluiting aan overstroomingen van uitgestrekte gebieden was opgetreden. Het ziektebeeld herinnerde aan een lichte *Weil*'s ziekte, waarbij icterus echter nooit — alleen Kathe (24) wil enkele gevallen met icterus gezien hebben, een met letalen afloop — optrad: acuut begin, hooge koorts gedurende 5 tot 7 dagen, razende pijnen vooral in de kuitspieren, soms exantheem, conjunctivitis, lichte angina, linksverschuiving der leucocyten, geringe albuminurie, bijna regelmatig een relaps, goedaardig beloop, doch langzame genezing.

Van twee gevallen konden Prausnitz en Lubinski *leptospiren* van het type *"Weil"* uit het bloed kweeken, — resp. in 1927 en 1929 is dit Kathe (24) en Epstein-Tarassow (11) ook gelukt — die echter voor dieren, zooals ratten, muizen, caviae, konijnen en apen, niet pathogeen bleken te zijn. Ze achtten het in hooge mate waarschijnlijk, dat deze *leptospiren* de verwekkers zijn van de ziekte, hoewel de identificatie daarvan door het mislukken van de cultiveeering en de dierproeven niet mogelijk is geweest. Genoemde auteurs vonden „besonders charakteristisch, dasz die Seuche fast ausschlieszlich Personen betroffen hat, welche im Ueberschwemmungsgebiet gearbeitet oder im Ueberschwemmungswasser gebadet haben; einzelne geben auch an, das Wasser getrunken zu haben .... Bei weitem die Mehrzahl aber hat viele Tage hintereinander, zum Teil bis an die Hüften im Wasser stehend, tagelang angestrengt gearbeitet, um entweder das schon geschnittene Heu zu bergen, oder um das Getreide, dasz unter Wasser stand, zu ernten. Die meisten Erkrankten sind junge, kräftige Männer, nur wenige

ältere Männer, wenige Frauen; Kinder und Greise sind nicht erkrankt".

Het aantal zieken beliep in de duizenden. Hierbij was opmerkelijk, dat in het algemeen onder de personen, die onder dezelfde omstandigheden arbeidden, een groot percentage gelijktijdig ziek werd. Van sommige hofsteden werd $^1/_4$, $^1/_3$ tot de helft van de in het overstroomde gebied werkzame arbeiders door de ziekte binnen enkele dagen aangetast. Contactinfecties van den eenen op den anderen persoon ontbraken, want in één en hetzelfde gezin kwam de ziekte slechts onder die leden voor, die in het overstroomingsgebied moesten werken. Ook de veronderstelling van de overbrenging door insecten, zooals muggen, was om deze reden niet goed mogelijk, omdat onverklaarbaar zou zijn, waarom de andere familieleden, die eveneens veel van de muggenplaag te lijden hadden, niet ziek werden. Voor de overbrenging door bloedzuigers of wormen bestonden er evenmin aanknoopingspunten. Prausnitz en Lubinski (46) meenden, dat deze ziekte veroorzaakt zou zijn door de in het *water* voorkomende leptospiren en schreven hieromtrent „man könnte wohl daran denken, dasz unter besonderen Verhältnissen eine Anreicherung der Spirochäten in dem Ueberschwemmungswasser eingetreten wäre, und dasz sie beim innigen Kontakt mit diesem Wasser in den Körper eindringen: sei es durch den Mund beim Trinken des Wassers, oder beim Essen durch Vermittlung der mit dem Wasser beschmutzten Hände; sei es durch die nicht intakte Haut der stundenlang im Wasser barfusz arbeitenden Personen".

In 1927, 1928 en 1929 traden eveneens dergelijke ziektegevallen op in *Silezie*, doch vertoonden niet meer zulke toppen als de eerste keer. Ook in andere deelen van *Duitschland* en eveneens in *Rusland* zou deze ziekte zijn voorgekomen.

Reeds vroeger, in 1891, heeft men in aansluiting aan overstroomingen dergelijke epidemieën geconstateerd, zonder echter den aard van de ziekte te herkennen, en deze in den groep van typhus, typhoid, scarlatina, vlektyphus, influenza of „onbekende ziekten" gerangschikt.

Maar ook heden is onze kennis omtrent het *Schlammfieber* nog zeer gebrekkig. Noch Prausnitz, noch Kathe of Epstein, slaagde er in de serologische eigenschappen van de

TABEL 9.

AGGLUTINATIE-LYSISPROEVEN.

Patiënten-serum (*Prausnitz*).	Leptospiren-stammen:				
	Weil-Nederland.	Baermann-stammen.			Hebdomadis.
		„Rachmat".	„Salinem".	„Pawirosendjojo".	
Schlammfieber 1	0	0	0	0	0
„ 2	0	0	0	0	0
„ 3	0	0	0	0	0
„ 4	0	0	0	0	0

Leptospiren-stam:	Antisera van de stammen:							
	Weil-Nederland.	„Rachmat" (*Baermann*).	„Salinem" (*Baermann*).	„Sowirono" (*Vervoort*).	rat Deli (*Vervoort*).	hond Deli (*Wolff*).	*waterstam* Wa A	*waterstam* Wa O
Schlammfieber (*Kritschewski*)	0	0	0	0	0	0	0	0
Muis Gent (*Bessemans*)	0	0	0	0	—	—	—	—

in enkele gevallen aangetoonde leptospiren te toetsen aan die van de ons bekende stammen.

Proeven met het bloedserum van een 4tal *Schlammfieber*patienten, door Prof. Prausnitz in 1927 het Inst. v. Trop. Hygiene toegezonden, op de agglutinabiliteit met *Weil*-leptospiren, met de Baermann-stammen *„Rachmat"*, *„Pawirosendjojo"* en *„Salinem"* en een *Hebdomadis*stam verliepen geheel negatief.

Daarentegen kwam het *Instituut* door de welwillendheid van Prof. Kritschewski te Moskou in het bezit van een stam, die bij een *Schlammfieberepidemie* in *Rusland* uit een patient gekweekt was. Deze stam, door Dinger en Verschaffelt,*) assistenten aan het *Instituut*, onderzocht, bezit een antigene structuur, welke geheel afwijkt van die der vele bij ons voortgekweekte stammen, in het bijzonder ook van die der echte *Weil*stammen. Indien nu deze stam werkelijk de verwekker is van het *Schlammfieber*, dan munt deze ziekte uit door een scherp gekarakteriseerd virus, door een lichtverloopend, goedaardig ziektebeeld en door een optreden en massa. Als een afzonderlijke ziekte zou men haar dan in het systeem een eigen plaats naast de *ziekte* van *Weil* in Europa geven, en niet, zooals Kathe wil, met de *Weil* vereenzelvigen. Het is te hopen, dat bij een nieuwe epidemie deze vraag afdoende bestudeerd kan worden.

Terwijl we hier te doen hebben met een diepgrijpend verschil van leptospiren, met twee scherp gescheiden, biologisch differente species, spreken Uhlenhuth en Fromme van *typen*, waarin ze de groep der echte *Weil*stammen meenen te kunnen onderverdeelen. De hierbij gebruikte methoden echter, o.a. het zoogenaamde *„Wachstumsverfahren"* **), zijn zeer gevoelig, zoodat het inderdaad mogelijk is bij de Europeesche *Weil*stammen, welke zich volgens de *agglutinatie-lysisproef* ***) als identiek met elkaar doen kennen, lichte verschillen te ontdekken. De gevoeligheid dezer methode is naar onze ondervinding

---

*) Zie Annalas de l'Institut Pasteur. 1930. Tome XLV. page 396.

**) Deze methode berust op het onderzoek van den *groei* van leptospirenstammen in een antiserumverdunning van 1 op 1000.

***) Al loopen deze stammen bij de *titergrens* eenigszins uiteen — één verdunning meer of minder, zooals *tabel* 7 ook doet zien — zoo geeft ons dit geen recht ze als *aparte* typen te beschouwen.

echter niet geheel specifiek, en de resultaten daarmee zijn dan ook niet altijd constant.

CONCLUSIE.

1. *Voor het ontstaan van de ziekte van Weil speelt het water in Nederland een belangrijke rol.*
2. *De infectie na contact met water wordt veroorzaakt door leptospiren, welke afkomstig zijn van dierlijke „dragers", waartoe in de eerste plaats behoort de rioolrat (mus decumanus s. norvegicus).*
3. *Alle in Nederland gevonden Weilleptospiren behooren tot één en dezelfde soort.*
4. *De leptospirosis febrilis Vervoort wordt door verschillende typen veroorzaakt, welke allerlei overgangen vertoonen tot de Weilleptospiren.*
5. *De leptospira pyrogenes moet voorloopig als een aparte groep naast de Weilleptospira worden beschouwd.*
6. *Het „Schlammfieber" is een leptospirosis, waarvan de verwekker geheel van de Weilleptospira afwijkt.*

HOOFDSTUK III.

De beteekenis van de rat in de epidemiologie van de ziekte van Weil.

Reeds lang heeft men het verband gezocht tusschen het optreden van *Weil's* ziekte met de aanwezigheid van ratten. Vallassopoulo (67) viel het reeds op, dat de ziekte in *Alexandrië* veel voorkwam op plaatsen, waar er een pestepidemie heerschte, en weer terugging, als in het belang der pestbestrijding de ratten werden verdelgd. Ook Fromme (12) kon tijdens den wereldoorlog constateeren, dat de ziekte onder de soldaten in de loopgraven, waar de rattenplaag groot was, veel voorkwam, en later verdween, als het aantal dezer dieren afnam.

Doch eerst door het aantoonen van de *Weilleptospira* in haar organisme verkreeg men een beter inzicht in de rol der ratten in de epidemiologie. Dit was in de eerste plaats de verdienste van *Inada* (22), *Ido* (21) en medewerkers. Ze waren tot dit onderzoek gekomen door de toevallige vondst van Miyajima (32) van *leptospiren* in de nieren van de *Japansche* veldmuis, de microtus montebelli, bij zijn onderzoekingen van de *Tsutsugamushi* in 1915.

Later konden onderzoekers in andere landen deze feiten bevestigen. De nevenstaande *tabel* 10 geeft ons eenigszins een beeld van de verbreiding van de leptospirosen onder de *mus decumanus* s. *norvegicus*. Deze cijfers laten echter geen vergelijkingen maken van de werkelijke *leptospirenindex* in de verschillende landen. Het zijn ongelijkwaardige grootheden, als gevolg van het gemis aan eenvormigheid van de onderzoekingsmethoden. We hebben gemerkt, dat sommige onderzoekers zich slechts bepaald hebben tot de *dierproef* met de rattennieren, andere alleen tot het *microscopisch* onderzoek van de nieren en (of) de urine. Derden

Naam van den onderzoeker.	Plaats van onderzoek.	Jaar.	Aantal onderzochte ratten.	Aantal positief.	Metho van onderzo
Ido, Hoki, Ito, Wani	Japan	1917	149	40 %	D + V
Courmont, Durand	Lyon	1917	50	8 %	
Martin, Pettit	Riquebourg-Oise	1917	155	0,65 %	D + V
idem.	Lorient	1917	12	12,5 %	D + V
idem.	Reims	1917	15	6,7 %	D + V
de Beaurepaire, Aragao	Rio de Janeiro	1917	6	16,7 %	
Nicolle en Blanc	Tunis	1917	91	0 %	V
Jobling en Eggstein	Nashville	1917	100	10 %	
Noguchi	New York	1917	41	21,9 %	D + V
Neill	Washington	1917		10 %	
Stokes, Ryle, Tytler	Vlaanderen	1917	15	40 %	D
Grosso	Genua	1917	43	2,3 %	
Lhéritier	Algier	1917	109	2,9 %	V
idem.	idem.	1917	50	6 %	V
Fromme	Düsseldorf	1918	67	1,5 %	D + T
Martin en Pettit	Marseille	1918	30	6,6 %	D + V
Nicolle en Lebailly	Tunis	1918	21	19,1 %	V
idem. idem.	idem.	1918	13	15,4 %	V
Coles	Bournemouth	1918	100	9 %	D
Lhéritier	Algier	1918	50	2 %	V
Leger en Certain	Dakkar	1918	120	0 %	
Ribeyro	Lima	1918	6	33 %	
idem.	idem.	1918	8 (jong)	0 %	
Noguchi	Guajaquil	1919	24	67 %	
Uhlenhuth en Zuelzer	Berlijn	1919	101	10 %	D + T
Blanc	Tunis	1919	107	11,2 %	V
Otteaen	Chicago	1919	30	3 %	V + S
Foulerton	London	1919	101	4 %	T + D
Dalmar en Balta	Barcelona	1919	15	85 %	
Smillie	Säo Paulo	1920	41	10 %	T
Stefanopoulo	Paris	1920	30	10 %	
Stevenson	London	1922	100	30 %	
Wadsworth	New York	1922	128	17,2 %	
Sigalas en Pirot	Bordeaux	1922	27	6 %	V + F
Carrieu en Sollier	Montpellier	1922	18	5 %	
Matsuzaki	Kyoto	1922	100	40 %	
Mendelson	Bangkok	1922	1483	0,54 %	D
Anigstein	Warschau	1923	40	10 %	
Schüffner en Kuenen	Amsterdam	1923	207	28 %	D + T
Lins	Rio de Janeiro	1923	19	15,3 %	D + V
Lins	idem.	1923	11	36,3 %	D + V
Robinson	Baltimore	1923	100	7 %	D
Guetti	Faenza	1923	13	15,4 %	
Fisscher	Amsterdam	1924	182	21 %	D + T
Soesilo	idem.	1925	401	10 %	D + T
Walch	Baltimore	1925	31	52 %	D + V
Fielding	Townsville	1925	222	0 %	D + F
Balfour	London	1925	154	22,6 %	
Sardjito en Postmus	Weltevreden	1926	23	17 %	D + V
S. Proehoeman	Gouda	1926	14	50 %	D + T
	Amsterdam		33	73 %	
	idem.		17 (jong)	6 %	

D = microscopisch onderzoek met donkerveld.
V = cultuur van niermateriaal.
S = coupes v. d. nier.
F = uitstrijk-praeparaat van niermateriaal.
T = dierproef.

weer meenden te kunnen volstaan met de *cultuurproef* van de nieren, enz. Zooals ons uit eigen onderzoekingen is gebleken, leiden deze methoden tot verschillende uitkomsten. Het aantal van de positieve resultaten met het microscopisch onderzoek van de urine der ratten was 17 op de 43 gevallen, d.i. bijna 40 %. Toen we van de 26 negatieve gevallen ook de nieren microscopisch onderzochten, bevonden er zich nog 8 positief, zoodat dus het percentage der positieve gevallen met deze beide methoden samen tot 60 steeg. Van de 18 resteerende negatieve gevallen werden nog 5 positief gevonden door de toepassing van de dierproef, waarbij de emulsie der rattennieren in caviae werd ingespoten. Deze methode verhoogde dus het aantal positieven tot 70 %. Ten slotte maakte de cultuurproef — waarbij het nierweefsel geënt werd op een cultuurbuis — het mogelijk, om nog *één* positief geval van de resteerende 13 op te sporen.

Aldus hebben deze 4 methoden, gecombineerd, het aantal positieve gevallen gebracht op 72 %.

De verschillende methoden kunnen elkaar niet vervangen, doch ze moeten elkaar aanvullen. Uit het volgende wordt dit duidelijk (zie ook *tabel* 11).

In 7 gevallen met negatief microscopisch onderzoek van de urine konden de leptospiren in de nieren wel microscopisch worden aangetoond, en omgekeerd werden in 2 gevallen, dat deze laatste negatief waren, de leptospiren in de urine gevonden. In andere 7 gevallen, waarin microscopisch geen leptospiren in de nieren aangetoond konden worden, was de dierproef positief, terwijl 5 keeren deze proef mislukte ofschoon de leptospiren in de nieren microscopisch waren gevonden. Eenmaal sloeg bij microscopisch positive urine de dierproef met dezelfde urine niet aan. In 9 gevallen van een negatief microscopisch onderzoek van de urine gaf de dierproef met het niermateriaal positieve resultaten; in *acht* negatieve gevallen van het microscopisch urineonderzoek was de cultuurproef van de nieren positief. Tweemaal, dat de nieren microscopisch geen leptospiren vertoonden, sloeg de cultuurproef aan met het zelfde materiaal, en tweemaal met positief microscopisch nieronderzoek was de dierproef met dezelfde nieren negatief. In 6 gevallen, dat de dierproef met niermateriaal positief was, bleef de cultuur van het zelfde materiaal negatief, terwijl in 4 gevallen van positive cultuur de dierproef

Aantal onderzochte ratten (Mus decumanus)		POSITIEF:				Aantal positief:
		Microscopisch onderzoek		Dierproef nieren	Cultuur-proef nieren	
groot:	klein:	urine	nieren			
2		0	2	2	2	2
1		0	1	1	—	1
1		1	—	—	—	1
1		0	0	1	0	1
1		1	—	—	—	1
3		0	0	0	0	0
3		0	0	2	0	2
1		0	1	1	1	1
2		0	0	0	0	0
1		0	0	0	0	0
1		1	—	—	—	1
1		0	1	0	1	1
1		0	0	0	1	1
1		0	1	0	1	1
1		0	0	1	1	1
1		1	0	1	0	1
1		1	—	—	—	1
1		0	1	0	1	1
1		1	—	—	0	1
2		—	0	0	0	0
1		1	1	1	—	1
1		1	—	—	—	1
1		1	—	—	—	1
1		1	—	—	—	1
1		1	1	1	—	1
1		1	—	—	—	1
5		—	2	0	—	2
1		1	1	1	—	1
2		2	—	—	—	2
2		0	0	0	—	0
1		1	—	—	—	1
1		1	0	1	0	1
1		0	0	0	0	0
		0	0	—	0	0
	1	0	0	1	0	1
	2	0	0	0	—	0
	1	—	0	0	—	0
	10	—	0	0	0	0
	3	—	0	—	—	0
16 mus rattus		—	0	—	0	0

„groote" ratten = met meer dan 20 c.M. lengte.
„kleine" ratten = met minder dan 20 c.M. lengte.

zonder resultaat bleef. In 4 gevallen viel de dierproef met nierweefsel positief uit, terwijl het microscopisch onderzoek van de urine en nieren en de cultuurproef geen resultaten gaven. Eenmaal was de cultuurproef van de nieren positief, terwijl het microscopisch onderzoek van de urine en nieren en de dierproef met de nieren negatief was.

Dat het *microscopisch* onderzoek van de urine alleen niet voldoende is, komt door het feit, dat de uitscheiding der leptospiren *intermitteerend* is en de hoeveelheid hiervan ook sterk kan wisselen. En dat het *microscopisch* onderzoek der nieren falen kan, waarop Walch reeds gewezen heeft, is verklaarbaar door het — in sommige gevallen — geringe aantal leptospiren in het nierweefsel, die vaak ook nog slechts op enkele plekken opgehoopt liggen.

Ook op de dierproef alleen mogen we ons niet verlaten, omdat er zich 3 mogelijkheden kunnen voordoen, waarbij deze methode géén resultaat geeft:

1. als de leptospirenstam zwak of niet virulent is, zoodat hij bij het proefdier niet aanslaat;
2. als de hoeveelheid van het infectieuze agens te gering is;
3. als het proefdier een natuurlijke immuniteit bezit tegen de besmetting.

Evenmin kan men alleen met de cultuurproef alle gevallen der rattenleptospirosis opsporen, daar men in de gevallen, dat er weinig, en dan nog slechts op enkele plekken opgehoopt, leptospiren voorkomen, wel toevallig deze plaatsen moet treffen, wil men tot een positief resultaat komen. Doch deze methode komt vooral daar tot haar recht, waar men te doen zou hebben met de reeds genoemde zwak of niet virulente leptospirenstammen of met niet ontvankelijke proefdieren.

Bij het onderzoek naar de rattenleptospiren dient men dus als volgt te werk te gaan.

Heeft men te beschikken over levende ratten, dan gaat men microscopisch de urine na. Indien negatief, kan men deze bij een cavia inspuiten.

In de praktijk echter komt deze wijze van werken minder in aanmerking, omdat men meestal met dood rattenmateriaal te maken heeft, en niet over de urine kan beschikken. In dit geval begint het onderzoek met de microscopie van de nierschors der

ratten, waaraan wordt aangesloten de enting met niermateriaal van een proefdier (cavia) en een cultuurbuis, een werkmethode, die we bij de levende ratten eerst doen volgen na een eventueel negatieven afloop van het microscopisch onderzoek der urine.

We hebben, deze werkwijze volgend, bij 33 volwassen ratten (van meer dan 20 c.M. lengte) uit *Amsterdam* 24 dragers (73%) en bij 14 uit *Gouda* afkomstige exemplaren 7 dragers (50%) gevonden. Deze cijfers zijn, als we *tabel* 10 bekijken, hoog, en illustreeren tevens het effect van de gecombineerde methode. Ze benaderen veel meer de absolute waarde der *ratten-leptospirosis*, ofschoon we ons niet ontveinzen, dat ons zelfs nu nog enkele gevallen kunnen zijn ontglipt.

Nicolle (38) wilde, dat bij de dierproeven in de gevallen, dat deze dieren niet ziek werden of dood gingen met typische verschijnselen, een naënting volgde met een zeker virulenten *Weilstam*, om hiermee te kunnen aantoonen, het al of niet bestaan van een rudimentaire infectie. Bleven de dieren hierbij in leven, dan zag hij daarin de werking van een door de eerste enting verkregen *immuniteit*. Deze gevallen wilde hij dan ook als positief beschouwen. Wij staan hier echter sceptisch tegenover uit de overweging, dat het positief of negatief uitvallen van de naenting nog niet altijd een bewijs is voor het *al* of *niet bestaan* van een tevoren doorgemaakte infectie.

Immers weten we, dat:

1. van de rattenleptospiren *verschillende* soorten *) bestaan, welke elkaar *immunisatorisch* niet dekken. Ondanks een doorgemaakte infectie, zou het proefdier toch ten gronde kunnen gaan, wanneer voor de na-enting een *niet-identieke* stam werd gebruikt;

2. aan het *overleven* van de *na-enting* een natuurlijke *onontvankelijkheid* van het proefdier ten grondslag kan liggen.

Ssinjuschina (57) wil de *rattenleptospirosis* opsporen door het aantoonen van de aanwezigheid van *antistoffen* in het bloedserum van de ratten. O.i. kleven er aan deze methode velerlei bezwaren. Het bloedserum van den natuurlijken rat-„drager" kan, zooals we straks uitvoeriger zullen zien, zelfs met den homologen stam een negatieve reactie geven. Bovendien is uit

*) In *Nederland* geldt deze regel vooralsnog niet. Zie ook bladzijde 55.

een *positief* resultaat de gevolgtrekking niet ge wettigd, dat we met een *drager* te doen hebben, daar de reactie immers alleen op de aanwezigheid van antistoffen en niet op die van leptospiren wijst.

Dat bij de berekening van het percentage „dragers" onder de ratten ook nog gelet moet worden op het te onderzoeken materiaal, hebben Schüffner en Kuenen (52) reeds aangetoond. Deze auteurs vonden onder de 207 te *Amsterdam* onderzochte ratten 28 % „dragers", doch indien ze de dieren verdeelden in exemplaren van *méér* dan 20 cM. lengte en in die van *minder*, dan kwamen ze tot een cijfer van resp. 45 en 2 ½. Ook wij hebben van de 17 jonge ratten uit *Amsterdam* slechts 1, d.i. 6 % *positief* gevonden. Indien we onze berekening over het heele totaal onderzochte ratten zouden maken, dan kwamen we tot een percentage van 40 *positieve* gevallen, inplaats van 73 voor de *volwassen* en 6 voor de *jonge* exemplaren.

Bij het materiaal van de andere onderzoekers van *tabel* 10 is op een enkele na deze scheiding niet gemaakt, zoodat ook hierin een bron voor de verschillende uitkomsten gezocht kan worden.

Wat zijn deze *rat-leptospiren* nu?

Ter beantwoording van deze vraag hebben we bij de 35 door ons geïsoleerde stammen nagegaan:

1. hun invloed bij inspuiting in caviae.

Hierbij hebben wij gezien, dat ze een typisch *„Weil"*-beeld, icterus en bloedingen, gaven.

2. hun reactie, zoowel *serologisch* als *immunologisch*, tegenover de leptospirensoorten, afkomstig van de *Nederlandsche „Weil"*-patienten, de *leptospira icteroides*-stammen, de „Baermann"-stammen *„Salinem"*, *„Pawirosendjojo"* en *„Rachmat"* en tegenover een *Hebdomadisstam.*

De uitkomsten hiervan worden weergegeven in *tabel* 12 en 13, waaruit we zien, dat ze *alle* identiek zijn met de *Nederlandsche „Weil"*-stammen.*)

Uit deze feiten maken we de conclusie, dat de *rat*-leptospiren

*) Dat *rat*-leptospiren echter ook een geheel andere reactie vertoonen kunnen, bewijst ons onderzoek van een *rat*-stam uit *Deli*, door Vervoort afgestaan, (zie tabel 7) en dat van Walch en Soesilo (69) van *rat*-stammen in *Weltevreden.*

BEL: 12. AGGLUTINATIE-LYSISPROEVEN:

Leptospirenstam:	ANTISERA.					
	Weil-Nederland	Leptospira icteroides	Baermann-stam: „Salinem"	Baermann-stam: „Rachmat"	Baermann-stam: „Pawiro-sendjojo"	Hebdor
Spoor	10.000	25.000	250	50	5.000	5(
Elberfeld	10.000	50.000	500	—	10.000	—
Kleiweg	25.000	25.000	250	100	5.000	0
Boelekade	10.000	—	500	50	10.000	1(
Adam 1	10.000	—	250	—	5.000	0
„ 2	25.000	25.000	500	500	25.000	0
„ 3	10.000	—	500	250	10.000	2
„ 4	10.000	25.000	1000	50	25.000	5(
„ 5	25.000	—	—	—	—	—
Sparreweg	25.000	—	—	250	—	—
Stal 1	25.000	—	—	—	—	—
„ 2	25.000	—	1000	250	—	—
„ 3	10.000	—	—	—	—	—
Zeeburgerpad 1	25.000	—	—	0	—	—
„ 2	25.000	—	—	—	—	—
„ 3	25.000	—	—	—	5.000	—
„ 4	25.000	—	—	—	—	—
„ 5	10.000	—	—	—	—	—
„ 8	50.000	—	—	25	—	—
„ 9	50.000	—	—	100	—	—
„ 10	25.000	—	—	0	—	—
Oosterpark 1	25.000	—	500	50	—	—
„ 2	25.000	—	—	50	—	—
„ 3	50.000	—	—	—	—	—
„ 5	25.000	—	—	50	—	—
Ouderkerk 1	50.000	—	—	—	—	—
„ 4	10.000	—	—	—	—	—
Rotterdam 1	50.000	—	—	10	—	—
„ 4	25.000	—	—	—	—	—
„ 16	25.000	—	—	—	—	—
„ 20	25.000	—	—	50	—	—
Abattoir 2	50.000	—	—	0	—	—
„ 8	10.000	—	—	—	—	—
Keizersgracht R. 18	10.000	—	—	0	—	—
	25.000	—	—	50	—	—
Utrecht 1	10.000	25.000	500	100	—	—
„ 3	25.000	—	250	10	—	—
Controle (antiserum met *eigen* stam)	25.000	50.000	25.000	50.000	25.000	25.

de „*Weil*"-verwekkers zijn. Dat ze voor den mensch infectieus kunnen zijn, blijkt uit laboratoriuminfecties, zooals Adamski (28), Longworthy en Moore (29) hebben beschreven.

De rat vervult dus de rol van een „Reinkulturapparat" (*Uhlenhuth*), dat met de urine de *Weil*verwekkers rondspreidt, om eventueel den mensch te besmetten. Slechts bij groote uitzondering geschiedt de besmetting door den *beet* van de rat. Inada, Ido (22), Harzer (15), Burton, Fanning en Cleveland (9) beschreven gevallen, die op deze wijze zijn ontstaan. Ook de hond kan langs dezen weg besmet worden, terwijl hij bovendien als verwoede rattenjager aan de infectie bloot staat. Klarenbeek (25) en eerder Monti (34) hebben er met recht op gewezen, dat de hond als een belangrijke drager van *Weil's* ziekte is te beschouwen. Kouwenaar en Wolff (27) vonden, dat de oogenschijnlijk gezonde straathonden in *Deli* voor minstens 5,7 % *leptospirendragers* *) zijn.

Waar de mensch met de rat in nauw contact komt, zooals in mijnen, loopgraven, abattoirs, riolen, vuilnisbelten, enz. kan hij allicht met de urine, direct of via voedingsmiddelen en water, besmet worden. Is de afstand grooter, zoo zal de infectiekans geringer zijn en beïnvloed worden door de omstandigheden, waaronder de leptospiren in de buitenwereld terecht zijn gekomen. Het is velen onderzoekers gebleken, dat de reactie, temperatuur, vochtigheidsgraad en rottingstoestand van de omgeving, het zonlicht, enz. van bijzondere beteekenis zijn voor het verder bestaan dezer ziekteverwekkers. Ze gaan n.l. snel ten gronde (Zuelzer (74)), of verliezen de infecteerende werking, als nadeelige invloeden niet worden opgeheven. Zoo kan b.v. de *verdunning* van de urine, die terecht komt in water of op waterrijke plaatsen, gunstig voor het behoud der leptospiren werken. **) Volgens Uhlenhuth en Zuelzer (65) kan de *Weil*-leptospira (menschenstam) zich *weken*lang in water in stand houden. Behalve proefondervindelijk [zie Uhlenhuth-

*) Deze leptospirenstammen komen in de *antigene* structuur niet geheel met de *Weil*-leptospiren overeen en vertoonen slechts een geringe virulentie tegenover caviae.

**) Soesilo lukte het caviae te infecteeren met alkalische *ratten*-urine, die 24 uur gestaan had.

TABEL 13. KRUIS-IMMUNISATIEPROEVEN.

Cavia No.	Eerste infectie met stam:	Interval tusschen de eerste en tweede infectie:	Tweede infectie met stam:	Afloop:	Controle dier:
368	B.stam *„Pawirosendjojo"*	31 dagen	*Elberfeld* +	genezen	**dood,** 6e dag
370	Weil *„Zwolle"*	29 „	„	„	„ 6e „
371	ratstam *Ht.*	29 „	„	„	„ 6e „
396	Weil *„Kie"*	11 „	*Spoor* +	„	„ 5e „
383	ratstam *Ht.*	39 „	„	„	„ 5e „
329	Weil *„Rotterdam"*	81 „	„	„	„ 5e „
451	ratstam *Kleiweg*+	32 „	„	„	„ 8e „
452	Weil *„London"*	25 „	„	„	„ 8e „
457	B.stam *„Rachmat"*	11 „	„	**dood,** 10e dag	„ 8e „
458	Weil *„Franken"*	10 „	„	genezen	„ 8e „
459	B.stam *„Salinem"*	10 „	„	**dood,** 6e dag	„ 8e „
462	ratstam *„Kleiweg"*	88 „	*Adam* 3+	genezen	„ 5e „
563	waterstam *WaZ*	27 „	„	**dood,** 6e dag	„ 5e „
579	„ *WaA*	28 „	„	„ 5e „	„ 5e „
594	ratstam *Adam* 3+	25 „	L.icteroides *„Le Blanc"*	genezen	„ 4e „
591	L.icteroides *R. Originale*	24 „	*Adam* 3+	„	„ 5e „
592	Weil *„Koekoek"*	24 „	„	„	„ 5e „
28	L.icteroides *Le Blanc*	51 „	ratstam *„Sparreweg"* +	„	„ 5e „
29	„ „	59 „	„ *Stal* 1+	„	„ 6e „
580	ratstam *Adam* 3+	39 „	„ *Sparreweg* +	„	„ 4e „
626	L.icteroides *R. Originale*	13 „	„ „	„	„ 4e „
627	„ *Merida*	13 „	„ „	„	„ 4e „
644	„ *R. Bahia*	18 „	„ *Adam* 3+	genezen	„ 7e „
620	Waterstam *WaO*	30 „	„ „	**dood,** 7e dag	„ 7e „
707	ratstam *Stal* 3+	21 „	L.icteroides *„Le Blanc"*	genezen	„ 7e „
704	„ *Zeeburgerpad* 6+	52 „	„ „	„	„ 4e „
719	„ *Oosterpark* 1+	38 „	„ „	**dood,** 4e dag	„ 4e „

Zuelzer (65), Ungermann (66), Uhlenhuth-Fromme (60) en Noguchi (40)] zijn deze invloeden ook door de waarnemingen in de natuur bevestigd geworden. In *Japan* b.v. heeft men gezien, dat in mijnen, waar de reactie van den bodem zuur was, geen *Weil*gevallen voorkwamen. Ook daar waar de bodem *droog* bleef, kon men hetzelfde constateeren.

Sawaë (50) en later Inada en Yuso Toyama (zie 74) deelden mee, dat de arbeiders van „natte" rijstvelden, die met *Ca(CN)2* waren bewerkt, dus waar de samenstelling van het water kunstmatig was veranderd, vrij bleven van *Weil's* ziekte, in tegenstelling met de andere, waar deze behandeling niet werd toegepast.

Behalve in *Japan* is ook in andere landen de invloed van de gesteldheid van den bodem op het optreden van deze ziekte bevestigd geworden door de ervaringen in de loopgraven en mijnen en door de onderzoekingen van Zuelzer en Sardjito (49) in *West-Java,* waar in water met een *zure* reactie geen leptospiren voorkomen. De ziekte van *Weil* zou in deze streken ook een zeldzaamheid zijn.

Deze feiten maken ook begrijpelijk, waarom het *morbiditeitscijfer* van *Weil*'s ziekte niet evenredig hoeft te zijn met de *frequentie* van de rat„dragers" in een bepaald gebied, want daar, waar deze *hoog* is, doch de voorwaarden voor het bestaan van de *Weil*-leptospiren in de buitenwereld ongunstig zijn, zal dat cijfer lager kunnen zijn, dan in streken met een lage leptospirenindex, doch met betere voorwaarden voor de leptospiren.

Hoe intusschen de rat „drager" is geworden, is tot nu toe niet duidelijk.

Het is mogelijk, dat een *algemeene haematogene infectie* aan de vorming van een *leptospirenreservoir* in de nieren is voorafgegaan, doch eveneens is denkbaar, dat een *retrograde besmetting* van de niertubuli via de urinewegen heeft plaats gehad. We hebben voor dit vraagstuk een oplossing trachten te vinden door serologisch onderzoek (agglutinatieproeven!) van het bloed van „negatieve" en „positieve" ratten.

De resultaten hiervan zijn weergegeven in *tabel* 14. „Dragers", op één uitzondering na, reageerden positief, hoewel ten hoogste tot een titer van 1000 à 2500, terwijl „niet-dragers"

alle negatief waren, behalve één, die ook in de nieren geen leptospiren vertoonde, en die een titer gaf van 25.

Waren deze reacties bij de „dragers" nu het gevolg van het *ectoparasitisme* van leptospiren, zooals dat in de nier bestaat, of nog de rest van een eventueel doorgemaakte haematogene infectie? Om hierin eenig licht te brengen, dienden de volgende proeven.

Na *intraperitoneale* inspuiting van een *Weil*stam bij „niet-dragers" vertoonde het serum hiervan een maximum titer van 1000 à 2500, een reactie dus gelijk aan die bij sommige „dragers" zonder de inspuiting. We zagen verder, dat een injectie van een *Weil*stam bij „dragers" met lagen titer deze van b.v. 250 tot 2500 opvoerde. Dit maakt aannemelijk, dat de positive reactie bij „dragers" een gevolg is van de *algemeene, haematogene infectie,* en dat de leptospiren, als ze eens *ectoparasieten* geworden zijn, geen of slechts een geringe antigene werking vertoonen. In deze meening worden we nog versterkt door het eene bovengenoemde geval, waarbij de reactie van een „drager" nul was, en waarbij we ons dus moeten voorstellen, dat de infectie van de rat reeds zoo lang geleden heeft plaats gehad, dat het bloed geen antistoffen meer bevatte, terwijl het *ectoparasitisme* niet in staat was deze te vormen.

Hieruit zou dus volgen, dat altijd een haematogene infectie is voorafgegaan, en dat we de hypothese der *retrograde infectie* moeten laten vallen.

Klarenbeek (26) zocht de verklaring van de *haematogne theorie* in de volgende feiten:

1. *jonge* ratten zijn in tegenstelling met de *volwassen* exemplaren zelden leptospirendrager.
2. *volwassen* dieren zijn dikwijls moeilijk en *jonge* dieren daarentegen makkelijk *kunstmatig* te infecteeren.
3. bij de *jonge* dieren vindt men na een dergelijke infectie de leptospiren op dezelfde wijze in de nieren gelocaliseerd als bij de *spontane* infectie.

Wat heeft dit *serologisch* onderzoek van de *rat* ons nog meer geleerd?

1. dat het rattenlichaam slechts *weinig* reageert op de lepto-

Serum van de rat		Titer tegenover de „Weil-Nederland"stammen:					
		Vóór de inspuiting of het voeren met *Weil*stam		*Na* de inspuiting met den homologen *Weil*stam		*Na* het voeren met virulenten *Weil*stam	
Drager"	„Niet drager"					„drager"	„niet-drager geworden
am 1		100	Met eigen stam.	—			
2		1000		—			
3		1000		—			
4		—		1000	(met virul. stam ingespoten		
lekade		1000		—			
1		0		—			
2		50		—			
3		50		—			
derkerk 1		250		—			
„ 3		250		2500	(met virul. stam ingespoten)		
„ 4		250		2500	„		
sterpark		2500		—			
18		250		—			
	Kattesingel 1	0		—			
	„ 2	0		—			
	Wijtenbach 1	0		1000	(met virul. stam ngespoten)		
	„ 2	0		1000	„		
	„ 3	0		2500	„		
	„ 4	0		—			
	Vondelpark	0		—			
	Lab 4	0		—			
	„ 5	0		250	(met virul. stam ingespoten)		
	„ 7	0		100	„		
	„ 8	0		—			
	„ 9	25	(Ook in nieren zijn geen leptospiren	—			10
	„ 10	0		—			
	„ 12	0		—			
	„ 13	0		—		500	
	„ 14	—		—			50
	„ 15	—		—		2500	
	Hok 1	0		—			
	„ 2	0		—			
	Lab 1	0		10	(met niet virul. stam ingespoten)		
	„ 2	0		—			
	„ 3	0		1000	(met virul. stam ingespoten)		
	„ 6	—		100	„		
	„ 11	0		1000	„		
	„ 16	—		—		100	
	„ 17	0		—			50

Kleine exemplaren.

spiren als antigenen, terwijl de vorming van agglutininen en lysinen evenredig is met de *virulentie* van het ingespoten materiaal;

2. dat de aanwezigheid van deze *specifieke* antistoffen ons begrijpelijk maakt, waarom E. Herrmann (17) bij haar onderzoekingen naar verschillen in den groei van *water-leptospiren* en pathogene *Weilleptospiren* in rattenserum gevonden heeft, dat de eerste goed en de andere in 15 % der gevallen niet hierin konden groeien.

3. dat de door *Ssinjuschina* (57) aangegeven methode om door middel van het *serologisch* onderzoek van de ratten tot de kennis van het *leptospirendragerschap* hiervan te komen niet aan te bevelen is, en wel om de volgende redenen:

a. De reactie kan, zooals we boven gezien hebben, ook *negatief* zijn in gevallen, dat de rat leptospiren in zich herbergt, en omgekeerd *positief*, waar men geen leptospiren vindt. De reactie duidt alleen de aanwezigheid van *antistoffen* aan.

b. In landen, waar de *ratleptospiren* uit verschillende soorten bestaan, is de methode omslachtig, omdat men de reactie met de verschillende soorten leptospiren zou moeten verrichten.

Eenmaal met het onderzoek van het *bloed* van wilde ratten bezig, hebben we tevens nagegaan, of hierin ook leptospiren zouden zijn aan te toonen, waarvoor we het microscopisch onderzoek, de cultuur- en de dierproef hebben toegepast. Aldus hebben we 29 ratten onderzocht, waarvan 4 natuurlijke *dragers* en 25 *niet*-dragers, waaronder 19 *jonge* exemplaren, alle met negatief resultaat.

Ook is ons bij al deze proeven gebleken, dat de rat een massale toediening van hoogvirulent *Weil*materiaal zeer goed verdraagt. We hebben bij 12 ratten, waarvan 5 kleine, een fikse hoeveelheid intraperitoneaal ingespoten zonder één doodelijk geval. Wel vertoonden enkele dieren gedurende de eerste dagen een ziekelijken indruk met soms zeer duidelijke icterische urine. De genezing geschiedde daarna snel.

Het voeren met *virulent* materiaal gaf evenmin belangrijke ziekteverschijnselen, terwijl van de twee groote en 6 kleine resp. één en twee exemplaren „drager" werden. Hierbij werd opgemerkt, dat het serum, hetwelk oorspronkelijk geen reactie vertoonde, na het voeren een titer van 2500 gaf.

CONCLUSIE.

1. *Een hoog percentage van de in Nederland gevangen rioolratten is „drager" van leptospiren.*
2. *Deze laatste zijn alle identiek met de Weilleptospiren.*
3. *Voor het onderzoek van ratten op leptospiren dient men de gecombineerde methode te volgen.*
4. *De door Ssinjuschina aangegeven methode, om door serologisch onderzoek der ratten tot een al of niet bestaan van een dragerschap van leptospiren te besluiten, is niet aan te bevelen.*
5. *Het is niet juist, om uit de negatief afloopende naëntingen met een virulenten Weilstam van de te voren met niermateriaal van ratten ingespoten caviae af te leiden, dat deze ratten „dragers" waren.*
6. *Bij de bepaling van de leptospirenindex is de scheiding van volwassen en jonge ratten noodzakelijk.*
7. *De steeds plaatselijke besmetting van de rattennier is als het naspel van een algemeene, haematogene infectie aan te zien.*
8. *Het organisme van de rat reageert weinig op de leptospiren als antigenen.*
9. *Als ectoparasieten hebben de leptospiren geen of slechts weinig invloed op de vorming van agglutininen resp. lysinen.*
10. *De rat verdraagt de infectie met zeer virulente Weilleptospiren goed.*
11. *Het voeren met virulent Weilmateriaal kan tot een infectie van de ratten leiden (Uhlenhuth).*

HOOFDSTUK IV.

Het verband tusschen de Leptospira icteroides en de Gele koorts en de verhouding van deze leptospira tot de Leptospira icterohaemorrhagiae.

Dit onderzoek werd verricht in een periode, toen de *Leptospira icteroides* bijna algemeen voor den verwekker der *gele koorts* werd gehouden, en het vraagstuk actueel was, omdat de juistheid van Noguchi's vondst door sommige onderzoekers werd betwist. We hebben toen getracht een bijdrage in deze kwestie te leveren door te beproeven, of de door Noguchi en anderen geconstateerde verschillen in serologische en immunologische eigenschappen tusschen de *leptospira icteroides* en de *leptospira icterohaemorrhagiae* inderdaad bestonden, en of de mogelijkheid van de overbrenging der besmetting met de *L. icteroides* door middel van Aedes Aegypti (*Stegomya fasciata*) den toets van het na-onderzoek konden doorstaan, en of dus de *L. icteroides*, welke volgens Manson Bahr (31), Schüffner en Mochtar (54) en Theiler en Sellards (58) zooveel overeenkomst vertoont met de „*Weilleptospira*", als identiek hiermee beschouwd mag worden. Hiervoor richtten we onze proeven zoodanig in, dat wij nagingen, of

a. de Aedesmuggen inderdaad de besmetting met *L. icteroides* overbrengen kunnen,
b. er werkelijk *serologische* en *immunologische* verschillen bestaan tusschen meergenoemde leptospira-soorten,
c. de *Aedesmuggen* ook de infectie met *l. icterohaemorrhagiae* kunnen overbrengen,
d. de beide leptospira-soorten zich in het organisme van de *Aedesmug* handhaven kunnen.

Voor deze experimenten hadden wij de beschikking over 5 stammen van de *L. icteroides*, welke afkomstig waren van prof.

Noguchi (stam *Merida*) en van prof. Roccha Lima (de stammen Bahia, Originale, Trias en le Blanc). De Aedesmuggen werden gekweekt uit eieren door prof. Hoffmann uit *Havana* gezonden. Verder werden gebruikt verschillende Nederlandsche *Weil*stammen, de *Sumatra*stam *„Salinem"*, de afwijkende *rat*stam „K" en een *hebdomadis*stam.

De resultaten dezer onderzoekingen zijn reeds eerder gepubliceerd in het Festschrift „Nocht": Abhandlungen aus dem Gebiete der Auslandskunde, Hamburg. Universität. Bd. 26. Reihe D. Medizin Bd. 2 Jahr 1928 en in het Münch. med. Wochenschrift 1928 No. 16 S. 682. Hier mogen nog ter aanvulling de *verslagen* der proeven volgen.

Ter orientatie diene de *bewijsvoering* van Noguchi (41), dat de *L. icteroides* de verwekker der *gele koorts* zou zijn:

1. *Noguchi heeft deze leptospira gevonden in het bloed van patienten, waarbij door Pareja en Elliot* (42) *de diagnose gele koorts was gesteld.*
2. *Deze leptospira was in staat bij proefdieren i.c. caviae een ziektebeeld op te wekken, dat geleek op de gele koorts van menschen.*
3. *De leptospira kon door de imagines der Aedes Aegypti, waarvan vaststaat, dat ze de overbrengers van de gele koorts zijn, worden overgebracht van mensch op cavia en van cavia op cavia.*
4. *Vaccin gemaakt van gedoode L. icteroides gaf bij den mensch beschutting tegen gele koortsinfectie.*
5. *Het serum van paarden, tevoren met L. icteroides geimmuniseerd had therapeutisch effect bij gele koortspatienten.*
6. *De L. icteroides gaf met sera van reconvalescente gele koortslijders of van reeds herstelden een positieve Pfeiffer's proef; deze was negatief met andere sera.*
7. *De L. icteroides was alleen agglutinabel met serum van gele koortspatienten.*
8. *De L. icteroides was morphologisch verschillend van de Weilleptospira, ze zou dunner en korter zijn.*

Het een en ander werd later bevestigd door de onderzoe-

kingen van Pérez Grovas (43), le Blanc (28) Vianna-Biäo (68), Müller (35), Perrin (44), W. H. Hoffmann (18 en 19), Iglesias (zie 41), Lyster, Pareja en Bailey (30), Rüder (47), Cran (10), Ninaud (39), Pothier en Pareja (zie 41), Müller en Blaisdell (36).

Sub a.

Kan de Aedes Aegypti de leptospira icteroides overbrengen?

Noguchi (41), die een zestal proeven heeft genomen met resp. 19 en 83 muggen, kon 2 *positieve* gevallen met nog één *twijfelachtig* geval noteeren. Ook Iglesias (zie 41) zou de experimenteele overbrenging door middel van muggen gelukt zijn.

Mochtar (33) daarentegen heeft deze muggenoverbrenging tevergeefs geprobeerd; het aantal gebruikte muggen was echter te gering, om uit de negatieve resultaten afdoende conclusies te mogen trekken, redenen waarom wij deze proeven met uitgebreider materiaal hebben voortgezet.

PROEF I.

In totaal werden hierbij 320 Aedesmuggen gebruikt, verdeeld over 5 series proeven, welke hieronder beschreven worden.

A. 1. 4. '27 werden 40 Aedesimagines gevoed met bloed van een met 1 icteroides geïnfecteerde cavia, dat ++ leptospiren bevatte. (Het microscopisch onderzoek van het caviabloed geschiedde met oculair 4 en objectief D. Zeiss in het donkerveld. ++ beteekent dan 15 à 20 leptospiren per gezichtsveld).

Bij deze muggen werd resp. ná 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 17, 18, 19 en 20 dagen telkens een normale cavia opgesloten, terwijl den 8sten en den 9den dag, en den 13den en 14den dag, en den 15den en 16den dag den muggen, telkens gedurende 2 dagen, gelegenheid werd gegeven een normale cavia te steken. Bij deze 17 caviae nu werden in het bloed nimmer leptospiren gevonden, terwijl de dieren geheel normaal bleven, op enkele na, die een temp. verhooging tot max. 39.4 kregen. Ook deze vertoonden in het verdere verloop geen verschijnselen meer, behalve cavia no. 10, die ontijdig succombeerde aan een intercurrente ziekte zonder typische afwijkingen of leptospiren in de organen.

Om het bestaan van een „symptoomlooze" infectie, ten gevolge van den steek der muggen, te kunnen uitsluiten, werden al deze caviae, behalve nos. 3 en 11, na verloop van tijd, varieerend tusschen 19 en 65 dagen, intraperitoneaal ingespoten met den homologen icteroidesstam.

Al deze caviae succombeerden 4 tot 13 dagen na de injectie onder typische verschijnselen (bloedingen en icterus) met leptospiren in den lever, behalve No. 8, welke na 4 dagen stierf onder verschijnselen van pseudotuberculose, zonder bloedingen of icterus en zonder leptospiren in den lever. Immuniteit als gevolg van een event. rudimentaire infectie heeft dus niet bestaan!

B. Den 18den April 1927 werden ruim 30 Aedesmuggen gevoed met bloed van een met l. icteroides geinfecteerde cavia, dat ++ leptospiren bevatte (9e dierpassage).

1. 9 dagen na den infecteerenden maaltijd werd gedurende 3 etmalen een normale cavia bij deze muggen opgesloten. Dit dier stierf enkele dagen later onder verschijnselen van pseudotuberculose, zonder ooit leptospiren in het bloed vertoond te hebben.

2. 15 dagen na den infecteerenden maaltijd werd gedurende 4 dagen bij deze muggen een normale cavia opgesloten; deze bleef gezond, in het bloed geen leptospiren aantoonbaar. Na 40 dagen ingeënt met den oorspronkelijken icteroidesstam; exitus volgde onder typische verschijnselen (icterus en bloedingen) met leptospiren in den lever.

C. Den 31sten Mei 1927 werden bij ruim 100 muggen een met l. icteroides geinfecteerde cavia met ++ leptospiren in het bloed (van de 11de dierpassage) opgesloten.

1. Na 3 dagen werd bij deze geinfecteerde muggen een normale cavia gedurende 4 dagen samengebracht; deze cavia bleef gezond, had slechts eenmaal een temperatuur van 39.2; na 17 dagen werd het dier ingespoten met den oorspronkelijken icteroidesstam, waarna exitus onder typische verschijnselen met leptospiren in den lever volgde.

2. Bij dezelfde muggen werd 13 dagen na den infectieuzen maaltijd weer een normale cavia gedurende 4 dagen opgesloten; wat gewichtsschommelingen en eenmaal een temperatuursverhooging tot 39.8 waren de eenige verschijnselen, in het bloed verschenen geen leptospiren; het dier bleef gezond en werd na 26 dagen met den oorspronkelijken icteroidesstam ingespoten, waarna exitus volgde met icterus en haemorrhagieën, hetgeen zijn vatbaarheid voor de infectie bewees.

D. Den 8sten Juni 1927 werden ruim 50 muggen opgesloten bij een met l. icteroides geinfecteerde cavia met ++ leptospiren van de 16de dierpassage in het bloed.

Proef.	Cavia No.	Hoeveel dagen *na* de infectie der muggen was de *normale* cavia bij deze opgesloten?	*Aantal* dagen der opsluiting.	Verloop met ziekte-verschijnselen va de cavia?
	1	1	1	neen
	2	2	1	neen
	3	3	1	koorts
A.	4	4	1	neen
	5	5	1	neen
met	6	6	1	neen
	7	7	1	koorts
40	8	8 tot 9	2	neen
	9	10	1	neen
geïnfec-	10	11	1	neen
teerde	11	12	1	neen
	12	13 tot 14	2	koorts
muggen.	13	15 tot 16	2	neen
	14	17	1	neen
	15	18	1	neen
	16	19	1	neen
	17	20	1	neen
B. met **30** muggen.	18	9 tot 11	3	neen
	19	15 tot 18	4	neen
C. met **100** muggen.	20	3 tot 6	4	koorts
	21	13 tot 16	4	koorts
D. met **50** muggen.	22	5 tot 8	4	neen
E. met **100** muggen.	23	6 tot 10	5	neen

dood typisch = gestorven met icterus en bloedingen, en leptospiren in den leve

Waren er *ospiren* in het d van de cavia n te toonen?	Afloop.	Hoeveel dagen na de opsluiting bij de muggen was de cavia *nageënt* met den homologen *icteroidesstam.*	Afloop der *naënting?*
neen	leeft	niet	—
neen	leeft	65	**dood** typisch
neen	leeft	niet	—
neen	leeft	57	**dood** „
neen	leeft	62	**dood** „
neen	leeft	63	**dood** „
neen	leeft	27	**dood** „
neen	leeft	27	**dood** „
neen	leeft	19	**dood** „
neen	dood intercurr. ziekte	—	—
neen	leeft	57	**dood** „
neen	leeft	62	**dood** „
neen	leeft	60	**dood** „
neen	leeft	58	**dood** „
neen	leeft	57	**dood** „
neen	leeft	56	**dood** „
neen	leeft	55	**dood** „
neen	pseudo-tuberculose	—	—
neen	leeft	43	**dood** „
neen	leeft	17	**dood** „
neen	leeft	26	**dood** „
neen	leeft	21	**dood** „
neen	leeft	21	**dood** „

Vijf dagen later werd een normale cavia bij de geinfecteerde muggen gebracht gedurende 4 dagen; in de eerste 2 weken vertoonde het proefdier lichte gewichtsschommelingen zonder koorts en zonder leptospiren in het bloed; na 21 dagen ingespoten met den oorspronkelijken icteroidesstam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

E. Den 23sten Juni 1927 werden 100 muggen gevoed met bloed, waarin ++ leptospiren van de 19e dierpassage, van een met l. icteroides geinfecteerde cavia.

Den volgenden dag werd nogmaals een geinfecteerde cavia met ++ leptospiren van de 19de dierpassage in het bloed bij deze muggen opgesloten, om de nog niet volgezogen exemplaren alsnog in de gelegenheid te stellen* zich te voeden.

Den 29sten Juni d.a.v. werd bij deze muggen gedurende 5 etmalen een normale cavia opgesloten; deze bleef steeds gezond. Na 21 dagen ingespoten met den oorspronkelijken icteroidesstam; het dier bezweek met icterus en bloedingen en veel leptospiren in den lever.

De resultaten dezer proeven zijn overzichtelijk weergegeven in *tabel* 15.

Van den *verwekker* der gele koorts weten we, dat hij bij menschen door middel van de *Aedes Aegypti* overgebracht wordt. Indien we dus zouden aannemen, dat deze verwekker de *L. icteroides* is, dan moet deze eveneens door de *Aedes* overgebracht kunnen worden op een zóó voor deze leptospira gevoelig proefdier als de *cavia*.

Van onze 23 *caviae*, welke we door muggensteken hebben trachten te besmetten, waarbij we in 3 gevallen 100 muggen, in 1 geval 50 muggen, in 2 gevallen 30 muggen en in 17 gevallen 40 muggen gebruikten, werd geen enkel dier *typisch* ziek, nog minder volgde *exitus* onder *typische* verschijnselen. Zelfs een *rudimentaire* infectie, waarvan immuniteit het gevolg zou zijn, kon, zooals de *naentingen* met den homologen stam leerden, moeilijk worden verondersteld.

We moeten dus hieruit concludeeren:

1. *de Aedes Aegypti is niet in staat de L. icteroides van cavia op cavia over te brengen.*
2. *de L. icteroides is niet de verwekker der gele koorts.*

---

* Bij deze muggen konden na 5 dagen door middel van de dierproef (zie tabel 20, serie 5*) de leptospiren in het lichaam worden aangetoond.

Sub b.

De vergelijking der serologische en immunologische eigenschappen der l. icteroidesstammen onderling en met die der Nederlandsche Weilstammen, den afwijkenden ratstam „K", den Sumatrastam „Salinem" en den Hebdomadisstam.

PROEF II.

A. Bij het serologisch onderzoek bepaalden we den agglutinatie-lysis-titer van de verschillende stammen ten opzichte van sera van konijnen, welke te voren met de onderscheidene stammen waren geimmuniseerd. Voor de uitkomsten wordt verwezen naar *tabel* 16 *en* 17.

TABEL 16.

Konijnen-antiserum van den icteroides stam:	Agglutinatie-lysis-titer tegenover de icteroidesstammen:				
	le Blanc.	Merida.	Bahia.	Originale.	Trias.
le Blanc	25.000	50.000	10.000	25.000	25.000
Merida	50.000	50.000	25.000	25.000	n. o.
Bahia	25.000	n. o.	25.000	n. o.	n. o.

n. o. beteekent: *niet onderzocht.*

In de bovenstaande tabel is samengevat de onderlinge verhouding der L. icteroidesstammen: *le Banc, Merida, Bahia, Originale* en *Trias,* waaruit we zien, dat ze alle vijf tot aan de titergrens aggultinabel zijn met de diverse antisera dezer stammen (*kruisagglutinatie*), zoodat we ze, *serologisch* gesproken, als identiek met elkaar moeten beschouwen.

De volgende tabel leert ons, dat ze tevens overeenkomen met den *Nederlandschen Weil*stam, ook wat betreft hun gedrag tegenover den *Sumatra*stam „Salinem", den afwijkenden *rat*stam „K" en den *Hebdomadis*stam.

TABEL 17.

Konijnen-antiserum van de stammen:	Agglutinatie-lysis-titer van de stammen:					
	Weil-Nederland.	le Blanc.	Merida.	Bahia.	Originale.	Trias.
Weil-Nederland *titer: 25.000*	25.000	25.000	25.000	25.000	25.000	10.000
Samatra-stam „Salinem" *titer: 10.000*	250	250	500	n. o.	n. o.	n. o.
Afwijkende ratstam „K" *titer: 25.000*	250	250	250	n. o.	n. o.	n. o.
Hebdomadis *titer: 25.000*	0	0	n. o.	n. o.	n. o.	n. o.
Normaal konijnenserum	0	0	n. o.	n. o.	n. o.	n. o.

„n. o." beteekent: *niet onderzocht.*

TABEL 18.

Cavia.	Geënt met *avirulent* geworden cultuur van den stam:	Herënt met *smetkrachtig* materiaal van den stam:	Hoeveel dagen na de eerste inspuiting herënt?	Afloop der *herënting.*	*Contrôle*dieren: (caviae alleen geënt met hetzelfde virulente materiaal als het bijbehoorende proefdier.)
1	le Blanc	Weil-Nederland	51	niet ziek	dood typisch
2	le Blanc	Weil-Nederland	59	niet ziek	dood „
3	Weil-Nederland	le Blanc	25	niet ziek	dood „
4	Merida	le Blanc	9	niet ziek	dood „
5	Bahia	le Blanc	15	niet ziek	dood „
6	Originale	le Blanc	15	niet ziek	dood „
7	Trias	le Blanc	19	niet ziek	dood „
8	Originale	Weil-Nederland	24	hersteld	dood „
9	Originale	Weil-Nederland	13	niet ziek	dood „
10	Bahia	Weil-Nederland	18	niet ziek	dood „

dood typisch = gestorven met icterus en bloedingen, en leptospiren in den lever.

Mochtar (33), die den icteroidesstam *le Blanc* reeds eerder heeft onderzocht, verkreeg dezelfde uitkomsten.

B. Voor het onderzoek der immunologische eigenschappen verrichtten we de *kruis-immunisatieproef*. Dit werd als volgt gedaan:

Een aantal caviae werd eerst ingespoten met een door langdurig kweeken in voedingsmedia *avirulent* geworden cultuur en vervolgens *nageent* met materiaal, waarvan door geregelde dierpassage de smetkracht op peil was gehouden.

De resultaten hiervan zijn neergelegd in *tabel* 18, waaruit blijkt, dat er tusschen de *l. icteroidesstammen* onderling, zoowel als tusschen deze en de *Nederlandsche Weil*stammen, evenmin eenig onderscheid bestaat.

Iedere met een *icteroides*stam geimmuniseerde cavia bleek beschut te zijn tegen de infectie met een letale (virulente) dosis van een anderen *icteroides*stam of *Nederlandschen Weil*stam, en omgekeerd was deze laatste in staat het proefdier te vrijwaren van een doodelijke besmetting met één der *icteroides*stammen.

Conclusie:

De vijf verschillende stammen der L. icteroides zijn én serologisch én immunologisch identiek met elkaar en met de Nederlandsche Weilstammen.

Sub c.

Zijn de Aedesmuggen in staat de Weilleptospira over te brengen van cavia op cavia?

De op deze vraag betrekking hebbende proef is weergegeven in *tabel* 19.

PROEF III.

Den 13den April 1927 werden 30 Aedesmuggen opgesloten bij een met een *Weil*stam geinfecteerde cavia, met ++ leptospiren in het bloed.

8 dagen later werd een normale cavia gedurende 1 etmaal bij deze muggen opgesloten. Den volgenden dag werd weer een normale cavia bij de muggen gedaan en wel gedurende 2 etmalen, daarna weer een op

TABEL 19.

Aantal dagen der opsluiting v/d normale cavia bij de 30 geïnfecteerde muggen.	Hoeveel dagen na de infectie der muggen?	Verloop met temperatuurs-verhooging of gewichtsverlies van de cavia?	Waren er leptospiren in het caviabloed aan te toonen?	Afloop.	Hoeveel *dagen* na de opsluiting b/d muggen nageënt met den homologen Weilstam?	Afloop der naënting.
1	8	ja	neen	leeft	22	dood typisch
2	9	geen	neen	leeft	27	dood „
2	12	geen	neen	leeft	35	dood „
3 + 2	18 + 6	geen	neen	leeft	51	dood „

dood typisch = gestorven met icterus en bloedingen, en leptospiren in den lever.

den 12den dag gedurende 2 etmalen en ten slotte één den 18den dag gedurende 3 etmalen. Deze 4 caviae bleven volkomen gezond. In het bloed waren nimmer leptospiren aantoonbaar.

Na verloop van 22 tot 35 dagen werden 3 dezer caviae intraperitoneaal ingespoten met den oorspronkelijken *Weil*stam ter controle van een eventueel opgetreden immuniteit. Twee succombeerden 5 dagen later onder typische *Weil*verschijnselen, en één onder het beeld van pseudotuberculose.

De 4de cavia van deze serie werd 27 dagen na de opsluiting nogmaals en wel gedurende 2 etmalen met 20 geinfecteerde muggen samengebracht, die 6 dagen tevoren bloed hadden gezogen van een Weilcavia met ++ leptospiren in het bloed, (om aldus een event. opgetreden immuniteit na de eerste infectie zoo mogelijk te verhoogen). Het dier bleef hierna gezond en werd 24 dagen later intraperitoneaal ingespoten met den oorspronkelijken Weilstam. Het stierf 6 dagen later onder typische Weilverschijnselen met leptospiren in den lever.

De resultaten dezer proeven zijn gelijk aan die der overbrengingsproeven van de *l. icteroides,* zoodat we de volgende conclusies mogen trekken.

1. *De Aedes Aegypti is niet in staat de Weilleptospira van cavia op cavia over te brengen.*
2. *De ziekte van Weil kan door den steek van genoemde mug niet bij caviae worden teweeggebracht.*

Sub d.

De levensduur van de l. icteroides en l. icterohaemorrhagiae in het lichaam van de Aedes Aegypti.

Tot dit onderzoek zijn we gekomen door de *negatieve* resultaten van de overbrengingsproeven met den *Aedes,* in aansluiting waarvan we ons de vraag stelden, of en hoe lang de leptospira zich in het algemeen handhaven kon in het muggenorganisme. Noguchi (41) immers heeft bij zijn proeven gevonden, dat de geinfecteerde muggen nog 8 á 12 dagen na den infecteerenden maaltijd de *l. icteroides* konden overbrengen; deze laatste was zelfs na 10 dagen microscopisch in de mug aan te toonen. Onze proeven hieromtrent omvatten het onderzoek van:

A. *den levensduur van de l. icteroides in het muggenlichaam,*

B. *dien der l. icterohaemorrhagiae,*

en zijn vastgelegd in de hieronder volgende protocollen:

A.

Proef: 1.

Den 3den Mei 1927 35 muggen gevoed met bloed van een met l. icteroides geinfecteerde cavia, waarin ++ leptospiren.

a. Na 20 uren een twintigtal dezer muggen geëmulgeerd, microscopisch geen leptospiren. Cavia met emulsie intra peritoneaal ingespoten, in verder verloop geen leptospiren aan te toonen; na 8 dagen dood aan peritonitis, zonder icterus of bloedingen, zonder leptospiren.

b. Na 2 dagen 15 dezer muggen geëmulgeerd, geen leptospiren; cavia intraperitoneaal met emulsie ingespoten; verloop zonder leptospiren; na 9 dagen dood aan peritonitis, zonder icterus of bloedingen, zonder leptospiren.

Proef: 2.

Den 6den Mei 1927 30 muggen gevoed met bloed van een met l. icteroides geinfecteerde cavia, waarin ++ leptospiren.

a. Na 4 uren in de emulsie van 5 dezer muggen leptospiren aantoonbaar.

b. Na 20 uren in de emulsie van 10 dezer muggen microscopisch geen leptospiren; cavia hiermee intraperitoneaal ingespoten, leptospiren positief, exitus met icterus en bloedingen, met veel leptospiren in den in den lever. Dus geen immuniteit ten gevolge van de injectie met de muggenemulsie.

c. Na 5 dagen in de emulsie van 12 muggen microscopisch geen leptospiren, ook dierproef negatief; naenting van de cavia met homologen stam na 29 dagen met letalen afloop, icterus en bloedingen, leptospiren in den lever. Dus geen immuniteit ten gevolge van de injectie met de muggenemulsie.

Proef: 3.

Den 31sten Mei 1927 28 muggen gevoed met bloed van een met l. icteroides geinfecteerde cavia, waarin ++ leptospiren.

TABEL 20.

Serie.	Aantal geëmulgeerde muggen.	Hoelang na den infectieuzen maaltijd deze muggen geëmulgeerd.	Bevatte de emulsie microscopisch *leptospiren?*	Waren er leptospirae in het periton. vocht of bloed v/d met deze muggen-emulsie ingespoten cavia gevonden?	Afloop.	Na hoelang herënt met denzelfden icteroidesstam?	Afloop der *herënting?*
1.	20	20 uren	neen	neen	**dood** peritonitis	niet	—
	15	44 uren	neen	neen	„ idem.	niet	—
2.	5	**4 uren**	**ja**	..... GEEN dierproef			
	10	**20 uren**	neen	**ja**	**dood** typisch	—	—
	12	5 dagen	neen	neen	leeft	29 dagen	**dood** typisch
3.	6	2 dagen	neen	neen	leeft	18 dagen	**dood** „
	6	3 dagen	neen	neen	leeft	17 dagen	**dood** „
	5	8 dagen	neen	neen	leeft	30 dagen	**dood** „
	5	13 dagen	neen	neen	leeft	28 dagen	**dood** „
	6	17 dagen	neen	neen	leeft	28 dagen	**dood** „
4.	5	5 dagen	neen	neen	leeft	28 dagen	**dood** „
	5	9 dagen	neen	neen	leeft	28 dagen	**dood** „
	9	12 dagen	neen	neen	leeft	31 dagen	**dood** „
5.	5	**24 uren**	**ja**	..... GEEN dierproef			
	5	**2 dagen**	neen	**ja**	**dood** typisch	—	—
	8	**4 à 5 dagen***	neen	**ja**	**dood** typisch	—	—
	10	14 dagen	neen	neen	leeft	18 dagen	**dood** typisch

dood typisch = gestorven met icterus en bloedingen, en leptospiren in den lever.

*) Zie noot blz. 70

a. Na 2 dagen in de emulsie van 6 dezer muggen microscopisch geen leptospiren; cavia hiermee ingespoten zonder ziekteverschijnselen; na 18 dagen herenting met den homologen stam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

b. Na 3 dagen 6 dezer muggen geemulgeerd, microscopisch geen leptospiren, de cavia met de emulsie ingespoten steeds gezond; na 17 dagen herënt met den homologen stam, exitus met icterus en bloeen leptospiren in den lever.

c. Na 8 dagen in de emulsie van 5 dezer muggen geen leptospiren (microscopisch); de cavia hiermee ingespoten zonder verschijnselen, na 30 dagen herent met den homologen stam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

d. Na 13 dagen in de emulsie van 5 dezer muggen microscopisch geen leptospiren; de cavia met deze emulsie ingespoten gedurende 2 dagen met temperatuursverhooging, in peritoneaalvocht en bloed geen leptospiren, later hersteld; herent met den homologen stam na 28 dagen, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

e. Na 17 dagen 6 dezer muggen geemulgeerd, microscopisch geen leptospiren; de cavia met deze emulsie ingespoten zonder ziekteverschijnselen; na 28 dagen herent met den homologen stam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

Proef: 4.

Den 8sten Juni 1927 een 19tal muggen gevoed met bloed van een met l. icteroides geinfecteerde cavia, waarin ++ leptospiren.

a. Na 5 dagen in de emulsie van 5 dezer muggen microscopisch geen leptospiren; de cavia hiermee ingespoten steeds gezond; na 28 dagen herent met den homologen stam, exitus met icterus en bloedingen, in den lever leptospiren.

b. Na 9 dagen in de emulsie van 5 dezer muggen microscopisch geen leptospiren; de cavia hiermee ingespoten zonder ziekteverschijnselen; herent na 28 dagen met den homologen stam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

c. Na 12 dagen 9 dezer muggen geemulgeerd, microscopisch geen leptospiren; de cavia met de emulsie ingespoten steeds gezond; na 31 dagen herent met den homologen stam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

Proef: 5.

Den 23sten Juni 1927 28 muggen gevoed met bloed van een met l. icteroides geinfecteerde cavia, waarin ++ leptospiren.

a. Den volgenden dag in de emulsie van 5 dezer muggen microscopisch: doode leptospiren.

b. Na 2 dagen in de emulsie van 5 dezer muggen microscopisch geen leptospiren; de cavia hiermee ingespoten, na 4 dagen leptospiren in het buikpunctaat; later exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

c. Na 5 dagen in de emulsie van 8 dezer muggen microscopisch geen leptospiren; de hiermee ingespoten cavia later dood met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

d. Na 14 dagen 10 dezer muggen geemulgeerd, microscopisch onderzoek en dierproef van deze emulsie negatief; herenting van de gebruikte cavia met den homologen stam na 18 dagen met letalen afloop met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

Uit deze proeven — zie *tabel* 20 — blijkt dus, dat de *l. icteroides* in 3 gevallen met tezamen 35 muggen, bij *microscopisch* onderzoek van de emulsie dezer laatste, slechts één keer teruggevonden werd na 1 etmaal, ondanks het feit, dat het door de muggen gezogen bloed zoo talrijke exemplaren bevatte. Hieruit moeten we wel opmaken, dat de *vernietiging* der leptospiren snel in het werk is gegaan.

Met de *dierproef*, waarbij de emulsie der muggen in een caviae werd ingespoten (in de peritoneale holte), hebben we als *langsten* termijn voor het instandhouden der leptospira in het muggenorganisme 4 à 5 dagen gevonden; hierbij was het aantal zoo gering, dat ze niet meer met het microscopisch onderzoek kon worden aangetoond.

De veronderstelling, dat de *l. icteroides* zich eventueel in eenigen *anderen* vorm in de mug voordoet, lijkt eveneens niet erg waarschijnlijk. Want bij de andere dierproeven gaf de inspuiting der emulsie van de muggen geen aanleiding tot een infectie, ja zelfs niet tot een rudimentairen vorm hiervan, zooals uit de naentingen met den homologen stam is gebleken.

TABEL 21.

Aantal geëmulgeerde muggen.	Hoelang na den infectieuzen maaltijd deze muggen geëmulgeerd?	Bevatte de emulsie microscopisch leptospiren?	Waren er leptospirae in het perit. vocht of bloed van de met deze emulsie ingespoten caviae gevonden?	Afloop.	Na hoelang herënt met homologen stam?	Afloop der herënting.
5	**40 uren**	**dood exemp.**	neen	**dood** typisch	niet	—
5	**64 uren**	geen	**ja**	**dood** typisch	niet	—
5	4½ dag	geen	neen	leeft	17 dagen	dood typisch
5	8 dagen	geen	neen	leeft	26 dagen	dood „
5	9 dagen	geen	neen	leeft	25 dagen	dood „
5	14 dagen	geen	neen	leeft	40 dagen	dood „
7	15 dagen	geen	neen	leeft	39 dagen	dood „

dood typisch = gestorven met icterus en bloedingen, en leptospiren in den lever.

Conclusie:

1. *De vernietiging van de l. icteroides in het muggenorganisme geschiedt zeer snel.*
2. *In den regel is ze reeds binnen de eerste 24 uur voltrokken.*
3. *Bij uitzondering kunnen zich enkele exemplaren langer, doch ten hoogste 5 dagen, handhaven.*

B.

Wat de l. icterohaemorrhagiae betreft, zij verwezen naar tabel 21 en bovendien naar de volgende protocollen:

Den 25sten Mei 1927 een 37tal muggen gevoed met bloed van een met een Nederlandschen Weilstam geïnfecteerde cavia, waarin ++ leptospiren.

1. Na 40 uren in de emulsie van 5 dezer muggen nog één doode leptospira bij microscopisch onderzoek gevonden; de cavia met de emulsie ingespoten dood met icterus en leptospiren in den lever, zonder noemenswaardige bloedingen.

2. Na 64 uren 5 dezer muggen geemulgeerd; microscopisch geen leptospiren; de met de emulsie ingespoten cavia was positief in het buikpunctaat, later exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

3. Na 4½ dag in de emulsie van 5 der muggen microscopisch geen leptospiren; dierproef negatief, na 26 dagen herent met den homologen Weilstam; exitus met icterus en bloedingen.

4. Na 9 dagen in de emulsie van 5 muggen microscopisch geen leptospiren, dierproef eveneens negatief, na 25 dagen herent met den homologen Weilstam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

5. Na 14 dagen 5 der muggen geemulgeerd, hierin microscopisch geen leptospiren; de cavia met de emulsie ingespoten gezond gebleven; na 40 dagen herent met den homologen Weilstam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

6. Na 15 dagen in de emulsie van 7 dezer muggen microscopisch geen leptospiren, de dierproef negatief; na 39 dagen de cavia herent met

den homologen Weilstam, exitus met icterus en bloedingen en leptospiren in den lever.

Uit deze proeven blijkt dus, dat de *Weil*leptospiren zich evenals de *l. icteroides* slechts korten tijd in stand kunnen houden in de *mug*.

We hebben in de emulsie van de muggen slechts nog na 40 uren de leptospira — en nog wel één reeds afgestorven exemplaar — *microscopisch* kunnen aantoonen. Met het feit, dat het gezogen bloed zoo talrijke leptospiren heeft bevat, bewijst dit, dat de *vernietiging* der laatste in het muggenorganisme *spoedig* moet zijn ingetreden.

De *langste* termijn, gedurende welken de *l. icterohaemorrhagiae* (*Weil*leptospira) zich in de mug staande heeft kunnen houden, was, zooals de *dierproef* leerde, 64 uur.

Bij de andere dierproeven kon met de *herentingen* met den homologen stam zelfs een rudimentaire infectie niet worden aangetoond. Dit feit maakt het tevens niet waarschijnlijk, dat de *Weil*leptospira zich in eenigen *anderen* vorm in de mug voordoet.

Ook in dit opzicht is dus het gedrag van de *l. icteroides* en dat van de *Weil*leptospira overeenstemmend.

Conclusie:

1. *De vernietiging van de Weilleptospira in de mug voltrekt zich, evenals bij de l. icteroides, snel.*
2. *Soms kunnen enkele individuen zich iets langer, (ten hoogste 64 uren), in het muggenorganisme handhaven.*

SLOTBESCHOUWINGEN.

Maken we nu een balans van hetgeen onze experimenten ons omtrent de *l. icteroides* en de *l. icterohaemorrhagiae* hebben geleerd, dan kunnen we besluiten:

1. De cavia is *gevoelig* voor een infectie met de *l. icteroides*.

2. De *Aedes Aegypti* kan noch de infectie met de *l. icteroides*, noch die met de *Weilleptospira* van cavia op cavia overbrengen.

3. De *l. icteroides* is dus niet de verwekker der *gele koorts*, omdat ze niet door den *Aedes*, den overbrenger van genoemde ziekte, op de voor deze leptospira zoo gevoelige cavia overgebracht kan worden.

4. Beide bovengenoemde leptospirasoorten verdwijnen spoedig — binnen enkele dagen — uit het muggenorganisme.

5. De veronderstelling, dat ze hierin in eenigen anderen vorm zouden voorkomen, lijkt niet waarschijnlijk.

6. De serologische en immunologische eigenschappen der *l. icteroides* en *l. icterohaemorrhagiae* zijn dezelfde.

HOOFDSTUK V.

Een diagnosticum voor Leptospirosen.

Zooals bekend, kan men in het laboratorium langs verschillende wegen tot de diagnose van deze groep van ziekten komen. Onder bepaalde omstandigheden is het mogelijk den verwekker *microscopisch* in urine of bloed met behulp van het „donkere veld" of in het „gekleurde praeparaat" aan te toonen, of door middel van de *dierproef* — waarbij caviae met bloed of urine worden ingespoten —, of ook door *kweeken in vitro* uit patientenbloed te isoleeren.

Een andere methode is de *indirecte*, waarbij men langs serologischen weg, n.l. met de *agglutinatieproef*, de specifieke *antistoffen* in het bloed van den patient tracht op te sporen. Deze methode heeft echter het bezwaar, dat ze slechts in daarop ingestelde laboratoria uitgevoerd kan worden, vanwege de moeilijkheden, welke het onderhouden van de leptospirencultuur met zich brengt. Immers deze leptospiren zijn bijzonder gevoelig voor allerlei invloeden, zoodat de cultuur spoedig onbruikbaar voor de proef wordt. Zelfs in de laboratoria, waar men zich speciaal op het kweeken van de leptospiren toelegt, moet men al te vaak ervaren, dat er iets aan de culturen hapert. Nog meer doet zich natuurlijk deze moeilijkheid gevoelen, als de proef buiten het laboratorium verricht zou moeten worden.

Het zijn juist deze bezwaren, die het verrichten van dit overigens zoo eenvoudige onderzoek in breeder kring niet mogelijk maken. Vele gevallen der *leptospirosen*, vooral de atypische

vormen, worden niet herkend, redenen, welke ons er toe geleid hebben naar een methode te zoeken, die deze moeilijkheden zou kunnen ondervangen.

We hebben te dien einde proeven genomen met een suspensie van gedoode leptospiren, op dezelfde wijze, zooals we dat bij bacterien gewend zijn, door toevoeging van formaline aan de culturen. De reactie was inderdaad gemakkelijk af te lezen en bovendien gevoelig (zie later), doch er deed zich een bezwaar voor, n.l. doordat in de suspensie zich al te spoedig een neerslag afzette, hetwelk tweeërlei gevolgen met zich bracht:

1. klontervorming, die zeer storend werkte op de beoordeeling der reactie, omdat ze niet van de specifieke agglutinatieklonters was te onderscheiden, en die zelfs door intensief schudden niet meer op te heffen was.
2. een onvoldoende dichtheid der suspensie, waardoor het scherp aflezen van de reactie, vooral in twijfelachtige gevallen, niet mogelijk was.

Door toevoeging van andere stoffen aan de suspensie, hetgeen het soortelijk gewicht van het medium verhoogde, hebben we nu getracht het proces van dit uitzakken der leptospiren te vertragen. Hierbij bleek, dat glucose zich tot dit doel het best leende.

Aldus hebben we een diagnosticum gekregen, hetwelk als volgt werd bereid:

Aan een zeer dichte cultuur, vrij van alle klontering, werd onder schudden geconcentreerd formaline toegevoegd tot een gehalte van 1 à 2 %, en kristallijn glucose tot een concentratie van 10 %. De verkregen suspensie was dan een homogene massa, waarin zich eerst langzamerhand een neerslag vormde. Men kan rekenen, dat de bruikbaarheid ligt binnen 1 à 2 maanden. Hierna gaat naast de homogeniteit en dichtheid ook de agglutinabiliteit achteruit.

De *techniek* der proef met dit reagens is dezelfde als met de *„levende"* culturen, zooals door Mochtar (55) werd beschreven.

In de *gevoeligheid* der beide reacties (*tabel* 22) ziet men geenerlei onderscheid. Het *verloop* echter wijkt geheel van elkaar af, en wel, omdat de bij de gewone methode optredende *lysis*

hier ten eenenmale ontbreekt, en het heele proces tot aan de titergrens door een *agglutinatie* wordt gekenmerkt. *) Zie *tabel* 23 en 24.

---

*) Dit verschijnsel brengt nader licht in het proces, hetwelk zich afspeelt bij deze serologische proeven met de *levende* leptospiren. Hierbij zien wij immers de *agglutinatie* reeds in de lage verdunningen ophouden.

Dit kan het gevolg zijn van de afwezigheid van de agglutininen en dus beteekenen, dat hier reeds de titergrens bereikt is. Wolff (71) daarentegen meende het te moeten verklaren uit het beloop der *lysis*, die zoo snel geschiedt, dat er voor de leptospiren geen gelegenheid is, om te agglutineeren. Deze hypothese vindt steun in de reactie met de geformaliniseerde leptospiren, omdat we zien, dat hierbij de agglutininen ook in de hoogere verdunningen tot de titergrens, voorhanden blijven.

TABEL 22.

AGGLUTINATIE-PROEVEN.

	Leptospirenstam:		Antisera: Weil Nederland	B. G. O.	K.	Rachmat.	Salinem.	Hebdomadis.	Wa Z.
„Levende" cultuur:	Weil Nederland	„Zaan"	25.000	100	100	100	250	50	0
		„Kie"	25.000	250	100	250	500	100	0
	B. G. O.		250	50.000	50.000	25.000	50	0	0
	Rachmat		100	25.000	50.000	25.000	50	0	0
	K.		250	25.000	50.000	25.000	100	0	0
	Pawirosendjojo		5.000	50	100	100	100	50	0
	Salinem		500	25	25	25	25.000	0	0
„Diagnosticum":	Weil Nederland	„Zaan"	25.000	100	250	100	500	50	0
		„Kie"	25.000	100	100	100	500	50	0
	B. G. O.		100	25.000	25.000	25.000	100	0	0
	Rachmat		250	25.000	50.000	25.000	50	0	0
	K.		100	50.000	25.000	25.000	50	0	0
	Pawirosendjojo		5.000	50	100	100	100	50	0
	Salinem		500	25	50	50	25.000	0	0

EL 23.

AGGLUTINATIE-PROEF:

b

„Levende" leptospiren met homoloog antiserum				„Gedoode" leptospiren met homoloog antiserum			
-ng	Agglutinatie	Lysis	„Vrije" lept. na 19 uren	Verdunning	Agglutinatie	Lysis	„Vrije" lept. na 19 uren
rôle	—	—	++++	Contrôle	—	—	++++
0	++	—	++	10	+	—	+++
5	+++	—	+	25	+	—	+++
0	++	+	+	50	++	—	++
0	—	+++	+	100	+++	—	+
0	—	+++	+	250	+++	—	+
0	—	+++	+	500	+++	—	+
0	—	+++	+	1000	++	—	++
0	—	++	++	2500	++	—	++
0	—	++	++	5000	++	—	++
0	—	++	++	10000	++	—	++
0	—	+	+++	25000	+	—	+++
0	—	—	++++	50000	—	—	++++

TABEL 24. 90

AGGLUTINATIEPROEF:

a				*b*			
„Levende" leptospiren met „laag" reageerend serum				*„Gedoode" leptospiren* met „laag" reageerend serum			
Verdunning	Agglutinatie	Lysis	*„Vrije"* lept. na 18 uren	Verdunning	Agglutinatie	Lysis	*„Vrije"* lept. na 18 uren
Contrôle	—	—	++++	Contrôle	—	—	++++
10	—	+++	+	10	+++	—	+
25	—	++	++	25	++	—	++
50	—	++	++	50	++	—	++
100	—	+	+++	100	+	—	+++
250	—	—	++++	250	—	—	++++
500	—	—	++++	500	—	—	++++

LITERATUUR.

1. Adamski. Zentralbl. f. d. ges. Hyg. 1927. Bd. 13. S. 140.
2. Baermann. Gen. T. v. Ned. Ind. 1923. Bd. 63. pag. 885.
3. Id. Handb. d. pathog. Microorg. Kolle u. Wassermann. Lief. 41. Bd. VII. Jhr. 1930.
4. Id. en Smits. Gen. T. v. Ned. Ind. 1927.
5. Id. en Zuelzer. Kl. Wschr. 1927. No. 21. S. 979.
6. Id. Id. Arch. f. Bakt., Protistenk. u. Inf. kr. 1928. Bd. 105. S. 345.
7. Bijl en Young. Versl. Centr. lab. Volksgez. Utrecht. 1927. No. 8.
8. Buchanan. Brit. Med. Journ. 1924. Vol. II. pag. 990.
9. Burton, Fanning and Cleveland. Brit. Med. Journ. 1926.
10. Cran. J. of Trop. Med. a. Hyg. 1925. Vol. 28. pag. 26.
11. Epstein u. Tarassow. Arch. f. Schiffs- u. Trop. Hyg. 1929. Bd. 33.
12. Fromme. Med. Kl. 1918. Bd. 27. S. 659.
13. Gardner. Zbl. f. d. ges. Hyg. 1929. Bd. 19. S. 371.
14. Gotschlich. Handb. d. pathog. Microorg. Kolle u. Wassermann. 1929. Bd. 1. T. 1. S. 215.
15. Harzer. Beitrag z. Kl. d. Inf. kr. Bd. 8. S. 51.
16. Hecker (von) u. Otto. D. med. Wochenschr. 1911. Bd. 1. No. 18. S. 820.
17. Herrmann. Zbl. f. Bakt. Orig. 1927.
18. Hoffmann. W. H., J. of trop. Med. a Hyg. 1924. Vol. 27. pag. 235.
19. Id. Klin. Wochenschr. 1927. No. 46. S. 2191.
20. Id. Handb. d. pathog. Microorg. Kolle u. Wassermann. 1929. Bd. 8. Lief. 32.
21. Ido. J. of exp. Med. 1916. No. 24. p. 471.
22. Inada and Ido. J. of exp. Med. 1916. No. 23. p. 377.
23. Kagaya. The Jap. J. of exp. Med. Vol. 7. No. 3. 1929. p. 393.
24. Kathe. Zbl. f. Bakt. Orig. Abt. 1. Bd. 109. Heft 5/6. S. 284.
25. Klarenbeek. Ned. T. v. Gen. 1923. Ib. bldz. 2695.
26. Id. Arch. f. Wissenschaftl. u. Prakt. Tierheilk. 1928. Bd. 57. H. 3.
27. Kouwenaar en Wolff. Ned. T. v. Gen. 1930. I. bldz. 376.
28. Le Blanc. J. of trop. Med. a. Hyg. 1925. Vol. 28. p. 169.
29. Longworthy a. Moore. J. of inf. Dis. 1927. Vol. 41. pag. 70.
30. Lyster, Pareja and Bailey. U. S. Nov. Med. Bull. 1920.
31. Manson Bahr. Lancet ii. 1922. Nov. 18. pag. 1056.
32. Miyajima (zie Ido). J. of exp. Med. 1916. a. 1917. pag. 482 a. 471.
33. Mochtar. Diss. 1927. Amsterdam.
34. Monti. Handb. d. pathog. Protoz. v. Prowazek. 1925. Lief. II. S. 1728.
35. Müller. J. of trop. Med. 1924. Vol. 27. pag. 299.
36. Müller and Blaisdell. J. of trop. Med. 1925. Vol. 28.
37. Neufeld. Zbl. f. Bakt. Orig. 1924. Bd. 93. S. 88+.
38. Nicolle. C. r. Soc. de Biol. 1918. p. 351.

39. Ninaud. Trop. Dis. Bull. 1927. Sept. pag. 165.
40. Noguchi. J. of trop. Med. a. Hyg. 1918. Vol. 27. p. 624.
41. Id. J. of trop. Med. a. Hyg. 1925. Vol. 28. p. 185.
42. Pareja a. Elliot. Arch. Intern Med. 1920. Vol. 25. p. 174.
43. Perez Grovas. J. Am. Med. Ass. 1921. Vol. 76. pag. 362.
44. Perrin. Am. J. trop. Med. 1923. Vol. iii. p. 27.
45. Pettit. Presse Méd. 1928. p. 1306.
46. Prausnitz u. Lubinski. Klin. W. schr. 1926. No. 44.
47. Rüder. D. med. W. 1926. S. 1424.
48. Sardjito en Postmus. Gen. T. v. Ned. Ind. 1927. No. 1.
49. Sardjito en Zuelzer. Mededeelingen Dienst Volksgez. Ned. Ind. 1928.
50. Sawaë. Presse Méd. 1917. p. 32.
51. Schmidt. Munch. med. Wochenschrift. 1917. S. 1144.
52. Schüffner en Kuenen. Ned. T. v. G. 1923. No. 2. blz. 2018.
53. Id. en medew. Ned. T. v. G. 1929. No. 40. 2de Helft.
54. Id. en Mochtar. Arch. f. Schiffs- u. Trop. Hyg. 1927. Bd. 31.
55. Id. Id. Mededeelingen Kon. Acad. v. Wetensch. Amsterdam. dl. 35. No. 8.
56. Soesilo. Diss. Amsterdam. 1925.
57. Ssinjuschina. Zbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1929. Bd. 114. No. 3. S. 199.
58. Theiler and Sellards. Am. J. of trop. Med. Vol. 6. 1926. p. 383.
59. Thiel (van) Ned. T. v. Hyg., Microbiol. en Serol. 1927. No. 1. p. 70.
60. Uhlenhuth u. Fromme. Z. f. Imm. 1916. Bd. 25. Orig. S. 405.
61. Id. Id. Handb. d. pathog. Miroorg. Kolle u. Wassermann. 1930. Lief. 41. Bd. 7.
62. Id. u. Grossmann. Kl. Wochenschr. 1926. No. 26. S. 1163.
63. Id. u. Herrmann. Med. Kl. 1927. No. 16. S. 599.
64. Id. u. Zuelzer. Kl. Wochenschr. 1922. No. 43. S. 2124.
65. Id. Id. Handb. d. pathog. Protoz. v. Prowazek. 1925. Lief. II. S. 1713 u. 1714.
66. Ungermann. Arb. a. d. Kaiserl. Ges. amt. 1918. Bd. 51. S. 114.
67. Vallassopoulo. Bull. Pasteur. 1917. pag. 645.
68. Vianna a. Biâo. Monogr. 20. Rockefell. Inst. f. Med. Res. New York. 1924.
69. Walch en Soesilo. Gen. T. v. Ned. Ind. 1927. dl. 67. Afl. I. blz. 84.
70. Wolbach a. Binger. J. of exp. Res. 1914. Vol. 30.
71. Wolff. Diss. Amsterdam. 1924.
72. Zimmermann. Arch. f. Schiffs- u. Trop. Hyg. 1929. Beiheft. Bd. 23. No. 3. S. 267.
73. Zuelzer. Arch. f. Hyg. u. Bakt. 103. S. 282.
74. Id. Handb. d. pathog. Protoz. v. Prowazek. 1925. Lief. II. S. 1648 u. 1737.